

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)



PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 4 :
C07D 257/02, 405/12
A61K 49/00, C07F 5/00
A61K 47/00

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 88/ 08422

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum: 3. November 1988 (03.11.88)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE88/00200

(22) Internationales Anmeldedatum: 28. März 1988 (28.03.88)

(31) Prioritätsaktenzeichen: P 37 13 842.1

(32) Prioritätsdatum: 22. April 1987 (22.04.87)

(33) Prioritätsland: DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):
SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE];
Postfach 65 03 11, Müllerstrasse 170-178, D-1000 Ber-
lin 65 (DE).

(72) Erfinder;und

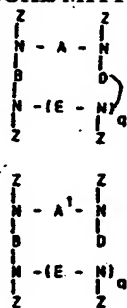
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : DEUTSCH, Julius
[DE/DE]; Horstweg 25, D-Berlin 19 (DE). GRIES,
Heinz [DE/DE]; Helmstedter Str. 19, D-1000 Berlin
31 (DE). CONRAD, Jürgen [DE/DE]; Sonnenallee
70, D-1000 Berlin 44 (DE). WEINMANN, Hanns-
Joachim [DE/DE]; Westhofener Weg 23, D-1000 Ber-
lin 38 (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (eu-
ropäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE
(europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB
(europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP,
LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent),
SE (europäisches Patent), US.

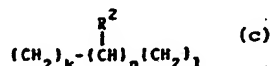
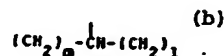
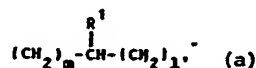
Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: SUBSTITUTED CYCLIC COMPLEX-FORMING SUBSTANCES, COMPLEXES AND COMPLEX
SALTS, PROCESS FOR MANUFACTURING SAME, AND PHARMACEUTICAL AGENTS WHICH
CONTAIN THEM

(54) Bezeichnung: SUBSTITUIERTE CYCLISCHE KOMPLEXBILDNER, KOMPLEXE UND KOMPLEXSALZE,
VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG UND DIESE ENTHALTENDE PHARMAZEUTI-
SCHE MITTEL



(I)



(57) Abstract

Compounds of general formula (I), where q stands for the numbers 0, 1, 2 or 3, A stands for the group (a), in which m = 1, 2, 3, 4 or 5, l = 0, 1, 2, 3, 4 or 5, R¹ is a straight-chain, branched, saturated or unsaturated C₀-C₂₀ alkylene group which may contain imino, phenylenoxy, phenylenimino, amido, hydrazido, ester groups, oxygen, sulphur and/or nitrogen atoms, possibly substituted by hydroxy, mercapto, imino-epoxy, oxo, thioxo and/or amino groups, having either a terminal ring of general formula (II), where (A') stands for the (b) group, a terminal functional group or a bio- or macromolecular bound to this functional group, B, D, and E, which are the same or different, each stand for the (c) group where R² is hydrogen or R¹, k = 0, 1, 2, 3, 4 or 5, n = 0 or 1, Z stands for hydrogen or CH₂X, where X stands for the residues -COOY or -PO₃HY where Y is a hydrogen atom and/or a metallic ion equivalent of one of the ordinal numbers 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44 or 57-83, provided that B, E, and D each contain not less than 2 and not more than 5 carbon atoms and that at least two Zs stand for CH₂X, as well as their salts with inorganic and/or organic bases or amino acids, are useful diagnostic and therapeutic agents.

(57) Zusammenfassung Verbindungen der allgemeinen Formel (I), worin q für die Ziffern 0, 1, 2 oder 3, A für die Gruppe (a), wobei m die Ziffern 1, 2, 3, 4 oder 5, l die Ziffern 0, 1, 2, 3, 4 oder 5, R¹ ein gegebenenfalls Imino-, Phenyl-, Phenylenimino-, Amido-, Hydrazido-, Estergruppe(n), Sauerstoff-, Schwefel- und/oder Stickstoff-Atom(e) enthaltende gegebenenfalls durch Hydroxy-, Mercapto-, Imino-, Epoxy-, Oxo-, Thio- und/oder Aminogruppe(n) substituierte geradkettige, verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C₀-C₂₀-Alkylengruppe, die am Ende entweder einen Ring der allgemeinen Formel (II), worin A¹ für die Gruppe (b) steht, eine funktionelle Gruppe oder gebunden über diese funktionelle Gruppe ein Bio- oder Makromolekül aufweist, bedeuten, B, D und E, die gleich oder verschieden sind, jeweils für die Gruppe (c), R² in der Bedeutung von Wasserstoff oder R¹, k in der Bedeutung der Ziffern 0, 1, 2, 3, 4 oder 5, n in der Bedeutung der Ziffern 0 oder 1, Z für Wasserstoff oder CH₂X stehen, worin X für die Reste -COOY oder -PO₃HY mit Y in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms und/oder eines Metallionenäquivalents eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44 oder 57-83 bedeuten, mit der Maßgabe, daß B, E und D jeweils mindestens 2 und maximal 5 Kohlenstoffatom(e) enthält und daß mindestens zwei Z für CH₂X stehen, sowie deren Salze mit anorganischen und/oder organischen Basen, oder Aminosäuren sind wertvolle diagnostische und therapeutische Mittel.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT Österreich	FR Frankreich	MR Mauritien
AU Australien	GA Gabun	MW Malawi
BB Barbados	GB Vereinigtes Königreich	NL Niederlande
BE Belgien	HU Ungarn	NO Norwegen
BG Bulgarien	IT Italien	RO Rumänien
BJ Benin	JP Japan	SD Sudan
BR Brasilien	KP Demokratische Volksrepublik Korea	SE Schweden
CF Zentrale Afrikanische Republik	KR Republik Korea	SN Senegal
CG Kongo	LI Liechtenstein	SU Soviet Union
CH Schweiz	LK Sri Lanka	TD Tschad
CM Kamerun	LJ Luxemburg	TG Togo
DE Deutschland, Bundesrepublik	MC Monaco	US Vereinigte Staaten von Amerika
DK Dänemark	MG Madagaskar	
FI Finnland	ML Mali	

**SUBSTITUIERTE CYCLISCHE KOMPLEXBILDNER,
KOMPLEXE UND KOMPLEXSALZE, VERFAHREN
ZU DEREN HERSTELLUNG UND DIESE ENTHALTENDE
PHARMAZEUTISCHE MITTEL**

-2-

Die Erfindung betrifft den in den Patentansprüchen gekennzeichneten Gegenstand, das heißt neue Komplexbildner, Komplexe und Komplexsalze, diese Verbindung enthaltende Mittel, ihre Verwendung in Diagnostik und Therapie sowie Verfahren zur Herstellung dieser Verbindungen und Mittel.

Die Anwendung von Komplexbildnern oder Komplexen bzw. deren Salzen in der Medizin ist seit langem bekannt. Als Beispiele seien genannt:

Komplexbildner als Stabilisatoren pharmazeutischer Präparate, Komplex und deren Salze als Hilfsmittel zur Verabreichung schlecht löslicher Ionen (z.B. Eisen), Komplexbildner und Komplexe (bevorzugt Calcium- oder Zink-), gegebenenfalls als Salze mit anorganischen und/oder organischen Basen, als Antidote zur Entgiftung bei versehentlicher Inkorporation von Schwermetallen oder deren radioaktiven Isotopen und Komplexbildner als Hilfsmittel in der Nuklearmedizin unter Verwendung radioaktiver Isotope wie ^{99m}Tc für die Szintigraphie sind bekannt.

In der Patentschrift DE-OS 3401052 sind neuerdings paramagnetische Komplexsalze als Diagnostika, vorwiegend als NMR-Diagnostika vorgeschlagen worden.

Alle bisher bekannten Komplexe und deren Salze bereiten bei ihrer klinischen Anwendung Probleme im Hinblick auf die Verträglichkeit und/oder Selektivität der Bindung und/oder Stabilität. Diese Probleme sind umso ausgeprägter, je höher die aus den Komplexbildnern abgeleiteten Produkte dosiert werden müssen. Die an und für sich nützliche Anwendung schwerer Elemente als Bestandteile von parenteral zu verabreichenden Röntgenkontrastmitteln scheiterte bisher an der ungenügenden Verträglichkeit derartiger Verbindungen. Bei den bisher für die Kernspintomographie vorgeschlagenen oder geprüften paramagnetischen Substanzen ist der Abstand zwischen der wirksamen und der im Tierexperiment toxischen Dosis relativ eng, und/oder sie weisen eine geringe Organspezifität und/oder Stabilität und/oder kontrastverstärkende Wirkung auf und/oder ihre Verträglichkeit ist unzureichend.

Der Ansatz, zumindest einen Teil dieser Probleme durch Verwendung von Komplexbildnern, die einerseits durch ionische Bindung an das jeweils geeignete Metall (siehe unten) sowie andererseits durch Bindung an eine funktionelle Gruppe oder ein als Carrier-Molekül dienendes nicht-toxisches und möglichst organophiles Makromolekül gebunden sind, zu lösen, war bisher nur sehr begrenzt erfolgreich.

Werden die funktionellen Gruppen des Komplexbildners zur Bindung des Moleküls an ein Makromolekül benutzt, so kommt es zu einer Abschwächung der Komplexstabilität, das heißt ein physiologisch nicht tolerierbarer Anteil der Metallionen des Makromolekül-Metallionen-Komplexes wird freigesetzt [C.H. Paik et al., J. Radioanal. Chem. 57, 553 (1980), D.J. Hnatowich et al., J. Nucl. Med. 26, 503 (1985)].

Verwendet man andererseits als Edukte bifunktionelle Komplexbildner, das heißt Komplexbildner, die sowohl funktionelle Gruppen zur koordinativen Bindung des gewünschten Metallions als auch eine (andere) funktionelle Gruppe zur Bindung des Makromoleküls tragen, so treten nach dem jetzigen Stand der Technik (C.F. Meares et al. Radioimmunoimaging and Radioimmunotherapie 1983, 185, Canadianisches Patent No. 1 178 951) die verschiedensten gravierenden Nachteile auf: zum Beispiel geringe Stabilität der Komplexe, vielstufige schwierige Synthesen der Komplexe, geringe Variationsmöglichkeiten der für die Bindung an das Makromolekül benötigten funktionellen Gruppe, Gefahr der Kontaminierung der Komplexbildner während ihrer Synthese mit Fremdmetallen, auf Grund der geringen Lipophilie nur begrenzte Reaktionsmöglichkeiten der Komplexbildner, mit Ausbeuteminderung und zusätzlichen Reinigungsschritten verbundene notwendige intermediäre Blockade der funktionellen Gruppen der Komplexbildner (zum Beispiel als Eisen-Komplex oder Schutz einer phenolischen Hydroxygruppe als Methylether), Notwendigkeit mit hochgereinigten Lösungsmitteln und Apparaturen zu arbeiten.

Es besteht daher für vielfältige Zwecke ein Bedarf an stabilen, gut löslichen, und hinreichend selektiven, aber auch besser verträglichen, gut zugänglichen Komplexverbindungen, die eine möglichst große Vielfalt für eine Bindung an Makromoleküle geeigneter funktioneller Gruppen aufweisen. Der Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, dies in Verbindung mit Mitteln zur Verfügung zu stellen, sowie ein möglichst einfaches Verfahren zu ihrer Herstellung zu schaffen. Diese Aufgabe wird durch die Erfindung gelöst.

-4-

Es wurde gefunden, daß sich Verbindungen, die aus dem Anion einer funktionalisierten komplexbildenden cyclischen Carbon- oder Phosphonsäure und einem oder mehreren Zentralionen eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44 oder 57-83 sowie gegebenenfalls einem oder mehreren Kationen einer anorganischen und/oder organischen Base oder Aminosäure bestehen, überraschend r-weise hervorragend zur Herstellung von NMR-, Röntgen- und Radio-Diagnostika wie Radiotherapeutika eignen.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen werden durch die allgemeine Formel I beschrieben



worin

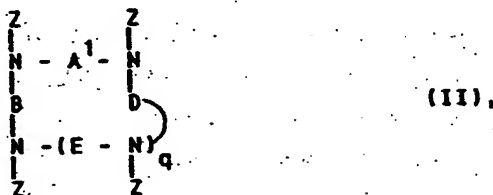
q für die Ziffern 0, 1, 2 oder 3,

A für die Gruppe $(\text{CH}_2)_m - \text{CH}(\text{R}^1) - (\text{CH}_2)_1$,

wobei m die Ziffern 1, 2, 3, 4 oder 5,

1 die Ziffern 0, 1, 2, 3, 4 oder 5,

R¹ eine gegebenenfalls Imino-, Phenylenoxy-, Phenylenimino-, Amid-, Hydrazido-, Estergruppe(n), Sauerstoff-, Schwefel- und/oder Stickstoff-Atom(e) enthaltende gegebenenfalls durch Hydroxy-, Mercapto-, Imino-, Epoxy-, Oxo-, Thioxo- und/oder Aminogruppe(n) substituierte geradkettige, verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C₀-C₂₀-Alkylengruppe, die am Ende entweder einen Ring der allgemeinen Formel II



ERSATZBLATT

-5-

worin A^1 für die Gruppe $(CH_2)_m - \overset{1}{\underset{|}{CH}} - (CH_2)_1$ steht,
eine funktionelle Gruppe oder gebunden über diese funktionelle Gruppe ein
Bio- oder Makromolekül aufweist,
bedeuten,

B, D und E, die gleich oder verschieden sind, jeweils für die Gruppe

$(CH_2)_k - \overset{R^2}{\underset{|}{CH}} - (CH_2)_1$ mit
 R^2 in der Bedeutung von Wasserstoff oder R^1 ,
 k in der Bedeutung der Ziffern 0, 1, 2, 3, 4 oder 5,
 n in der Bedeutung der Ziffern 0 oder 1.

Z für Wasserstoff oder CH_2X stehen, worin

X für die Reste $-COOY$ oder $-PO_3HY$ mit Y in der Bedeutung eines Wasserstoff-
atoms und/oder eines Metallionenäquivalents eines Elements der Ordnungszah-
len 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44 oder 57-83 bedeuten,

mit der Maßgabe, daß B, E und D jeweils mindestens 2 und maximal 5 Kohl nstoffs-
atom(e) enthält und daß mindestens zwei Z für CH_2X stehen,

sowie deren Salze mit anorganischen und/oder organischen Basen oder Amin säu-
ren.

Verbindungen der allgemeinen Formel I mit Y in der Bedeutung von Wasserstoff
werden als Komplexbildner und mit mindestens zwei der Substituenten Y in der
Bedeutung eines Metallionenäquivalents als Metallkomplexe bezeichnet.

Das Element der oben genannten Ordnungszahl, welches das Zentralion des physi-
ologisch verträglichen Komplexsalzes bildet, kann für den angestrebten V rwen-
dungszweck des erfindungsgemäßen diagnostischen Mittels selbstverständlich auch
radioaktiv sein.

Ist das erfindungsgemäße Mittel zur Anwendung in der NMR-Diagnostik bestimmt,
so muß das Zentralion des Komplexsalzes paramagnetisch sein. Dies sind insbe-
sondere die zwei- und dreiwertigen Ionen der Elemente der Ordnungszahlen 21-29,
42, 44 und 58-70. Geeignete Ionen sind beispielsweise das Chrom(III)-, Mangan
(II)-, Eisen(II)-, Cobalt(II)-, Nickel(II)-, Kupfer(II)-, Praseodym(III)-,
Neodym(III)-, Samarium(III)- und Ytterbium(III)-ion. Wegen ihres sehr starken
magnetischen Moments sind besonders bevorzugt das Gadolinium(III)-, Terbium
(III)-, Dysprosium(III)-, Holmium(III)-, Erbium(III)- und Eisen(III)-ion.

Für die Verwendung der erfindungsgemäßen Mittel in der Nuklearmedizin muß das Zentralion radioaktiv sein. Geeignet sind zum Beispiel Radioisotope der Elemente Kupfer, Kobalt, Gallium, Germanium, Yttrium, Strontium, Technetium, Indium, Ytterbium, Gadolinium, Samarium und Iridium.

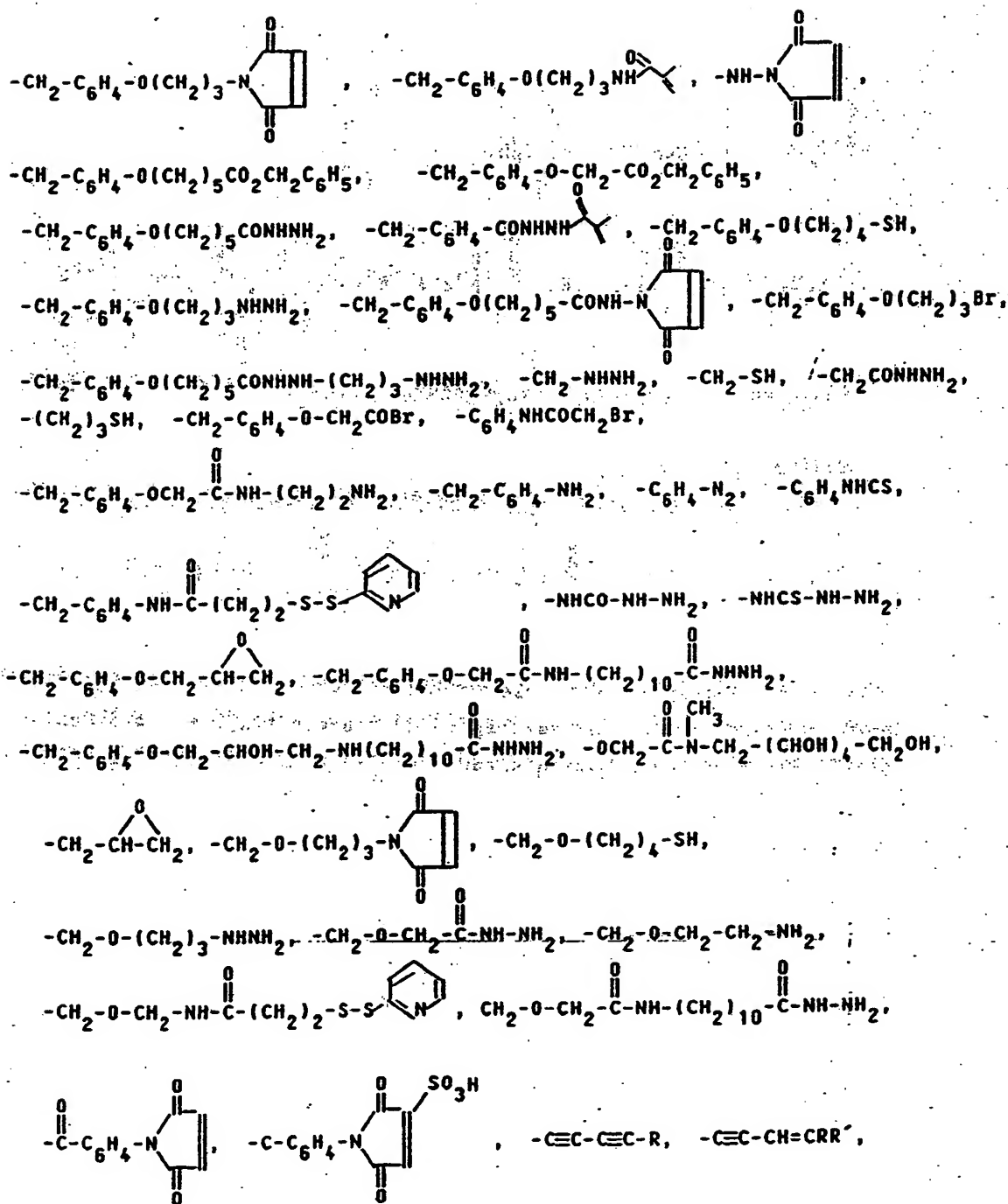
Ist das erfindungsgemäße Mittel zur Anwendung in der Röntgen-Diagnostik bestimmt, so muß sich das Zentralion von einem Element höherer Ordnungszahl ableiten, um eine ausreichende Absorption der Röntgenstrahlen zu erzielen. Es wurde gefunden, daß zu diesem Zweck diagnostische Mittel, die ein physiologisch verträgliches Komplexsalz mit Zentralionen von Elementen der Ordnungszahlen zwischen 21-29, 42, 44, 57-83 enthalten, geeignet sind; dies sind beispielsweise das Lanthan(III)-ion und die oben genannten Ionen der Lanthanidenreihe.

Die in R^1 enthaltene Alkylengruppe kann geradkettig, verzweigt, cyclisch, aliphatisch, aromatisch oder arylaliphatisch sein und bis zu 20 Kohlenstoffatome aufweisen. Bevorzugt sind geradkettige Mono- bis Hexamethylengruppen sowie C_1 - C_4 -Alkylphenylgruppen. Enthält die Alkylengruppe eine Phenoxygruppe, so ist diese bevorzugt p-ständig über eine Methylengruppe an die -CH-Gruppe des Grundgerüsts der Verbindung der allgemeinen Formel I gebunden.

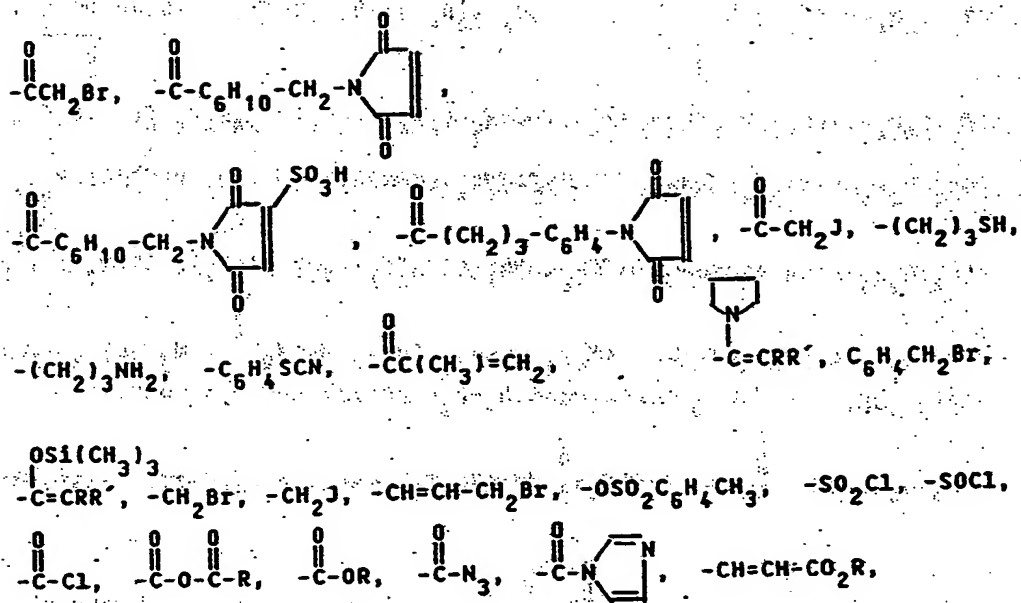
Bevorzugte funktionelle Gruppen, die sich am Ende der R^1 -Alkylengruppe befinden, sind beispielsweise die Benzylester-, Ethylester-, t-Butylester-, Amino-, C_1 - C_6 -Alkylamino-, Aminocarbonyl-, Hydrazino-, Hydrazinocarbonyl-, Maleimido-, Methacrylamido-, Methacryloylhydrazinocarbonyl-, Maleimidamidocarbonyl-, Halogeno-, Mercapto-, Hydrazinotrimethylenhydrazinocarbonyl-, Aminodimethylenamido-, Bromcarbonyl-, Phenylendiazonium-, Isothiocyanat-, Semicarbazid-, Thiosemicarbazid-Gruppe.

-7-

Zur Verdeutlichung seien einige ausgewählte R¹-Substituenten aufgeführt:



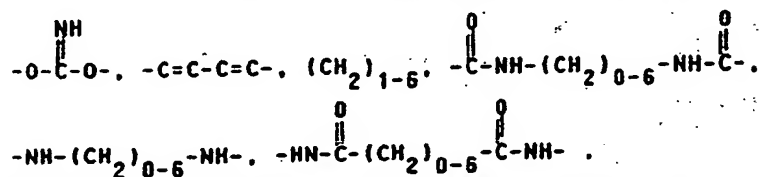
-8-



wobei R und R' gleich oder verschieden sind und jeweils für ein Wasserstoffatom, einen gesättigten oder ungesättigten gegebenenfalls durch eine Phenylgruppe substituierten C₁-C₂₀-Alkylrest oder eine Phenylgruppe stehen.

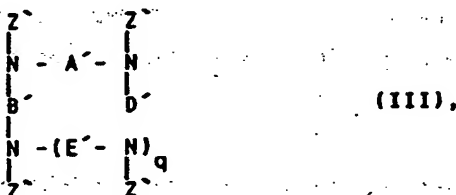
-9-

Enthalten die erfindungsgemäßen Verbindungen (einen) Ring(e) der allgemeinen Formel II, so erfolgt die Verknüpfung bevorzugt über die Gruppen



Wenn nicht alle aziden Wasserstoffatome durch das Zentralion substituiert werden, können ein, mehrere oder alle verbleibenden Wasserstoffatom(e) durch Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren ersetzt sein. Geeignete anorganische Kationen sind beispielsweise das Lithiumion, das Kaliumion, das Calciumion und insbesondere das Natriumion. Geeignete Kationen organischer Basen sind unter anderem solche von primären, sekundären oder tertiären Aminen, wie zum Beispiel Ethanolamin, Diethanolamin, Morpholin, Glucamin, N,N-Dimethylglucamin und insbesondere N-Methylglucamin. Geeignete Kationen von Aminosäuren sind beispielsweise die des Lysins, des Arginins und des Ornithins.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Komplexe erfolgt dadurch, daß man zunächst in an sich bekannter Weise in Verbindungen der allgemeinen Formel III



worin

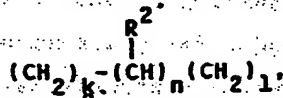
A' für die Gruppe $(\text{CH}_2)_1-\text{CH}(\text{R}^1)-(\text{CH}_2)_1$.

wobei R¹ eine gegebenenfalls Imino-, Phenylenoxy-, Phenylenimino-, Amido-, Hydrazido-, Estergruppe(n), Sauerstoff-, Schwefel- und/oder Stickstoff-Atom(e) enthaltende, gegebenenfalls durch Hydroxy-, Mercapto-, Imino-, Epoxy-, Oxo-, Thioxo- und/oder Aminogruppe(n) substituiert geradkettige, verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C₀-C₂₀-Alkylengruppe, die am Ende entweder einen Ring der allgemeinen Formel II



oder eine funktionelle Gruppe bedeuten,

B', D' und E', die gleich oder verschieden sind, jeweils für die Gruppe



mit R² in der Bedeutung von Wasserstoff oder R¹

Z' für Wasserstoff oder X' stehen, worin

X' die Reste -COOY' oder PO₃Y'₂ mit Y' in der Bedeutung einer Säureschutzgruppe bedeuten,

die Schutzgruppen Y' abspaltet und die so erhaltenen Säuren der Formel III' mit Y' in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms gewünschtenfalls

a) in an sich bekannter Weise mit mindestens einem Metalloxid oder Metallsalz eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44, 49 oder 57-83 umgesetzt und anschließend, falls gewünscht, vorhandene azide Wasserstoffatome durch Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren substituiert,

oder

b) in an sich bekannter Weise mit mindestens einem Metalloxid oder Metallsalz eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44, 49, oder 57-83 umgesetzt und anschließend die so erhaltenen Metallkomplexe in an sich bekannter Weise über die in R¹ enthaltene funktionelle Gruppe an ein Bio- oder Makromolekül bindet und, falls gewünscht, vorhandene azide Wasserstoffatome durch Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren substituiert,

oder

c) in an sich bekannter Weise über die in R¹ enthaltene funktionelle Gruppe an ein Bio- oder Makromolekül bindet und anschließend in an sich bekannter Weise

mit mindestens einem Metalloxid oder Metallsalz eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44, 49 oder 57-83 umgesetzt und anschließend, falls gewünscht, vorhandene azide Wasserstoffatome durch Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren substituiert.

Als Säureschutzgruppen Y' kommen niedere Alkyl-, Aryl- und Aralkylgruppen, beispielsweise die Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Butyl-, Phenyl-, Benzyl-, Diphenylmethyl-, Triphenylmethyl-, bis(p-Nitrophenyl)-methylgruppe, sowie Trialkylsilylgruppen in Frage.

Die Abspaltung der Schutzgruppen Y' erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Verfahren, beispielsweise durch Hydrolyse, alkalische Verseifung der Ester mit Alkali in wässrig-alkoholischer Lösung bei Temperaturen von 0 bis 50°C oder im Fall von z.B. tert.-Butylestern mit Hilfe von Trifluoressigsäure.

Die Herstellung der Edukte erfolgt durch Cyclisierung zweier Reaktanten, von denen der eine R¹- der andere R²-substituiert ist, wobei R¹ für einen Substituenten, der in R¹ umgewandelt werden kann und R² für Wasserstoff oder R¹ stehen; die so erhaltenen cyclischen Verbindungen werden anschließend gegebenenfalls nach Abspaltung von N-Schutzgruppen, mit einem Ester der allgemeinen Formel IV



worin Hal für Chlor, Brom oder Jod steht, und X' die für die allgemeine Formel III angegebene Bedeutung hat, alkyliert.

Die Cyclisierung wird nach literaturbekannten Methoden, (zum Beispiel Org. Synth. 58,86 (1978), Makrocyclic Polyether Syntheses, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1982, Coord.Chem.Rev. 3,3 (1968), Ann. Chem. 1976,916) durchgeführt: einer der beiden Reaktanten trägt am Kettenende zwei Fluchtgruppen, der andere zwei Stickstoffatome, die nukleophil diese Fluchtgruppen verdrängen. Als Beispiel seien genannt die Umsetzung von endständigen, gegebenenfalls ein oder zwei Stickstoffatom(e) enthaltenden, Dibrom-, Dimesyloxy-, Dimesyloxy- oder Dialkoxycarbonylalkylenverbindungen mit endständigen, gegebenen-

falls ein oder zwei zusätzliche Stickstoffatom(e) in der Alkylenkette enthaltenden Diazaalkylenverbindungen, von denen einer der beiden Reaktanten $R^{1''}$ -, der andere $R^{2''}$ -substituiert ist.

Die Stickstoffatome sind gegebenenfalls geschützt, zum Beispiel als Tosylat, und werden vor der nachfolgenden Alkylierungsreaktion nach literaturbekanntem Verfahren freigesetzt.

Werden Diester in die Cyclisierungsreaktion eingesetzt, so müssen die so erhaltenen Diketoverbindungen nach dem Fachmann bekannten Verfahren, zum Beispiel mit Diboran, reduziert werden.

Die nachfolgende Alkylierung mit Halogenestern der allgemeinen Formel IV erfolgt in polaren aprotischen Lösungsmitteln wie zum Beispiel Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid oder Hexamethylphosphorsäuretriamid in Gegenwart eines Säurefängers, wie zum Beispiel tertiäres Amin (zum Beispiel Triäthylamin, Trimethylamin, N,N-Dimethylaminopyridin, 1,5-Diazabicyclo [4.3.0]nonen-5 [DBN], 1,5-Diazabicyclo [5.4.0]undecen-5 [DBU], Alkali-, Erdalkalicarbonat oder -hydrogencarbonat (zum Beispiel Natrium-, Magnesium-, Calcium-, Barium-, Kaliumcarbonat und -hydrogencarbonat) bei Temperaturen zwischen -10°C und 120°C , vorzugsweise zwischen 0°C und 50°C .

Die Synthese von Verbindungen mit mehr als einem Ring erfolgt nach literaturbekannten Verfahren, zum Beispiel über eine Additions/Eliminierungs-Reaktion einesamins mit einer Carbonylverbindung (zum Beispiel Säurechlorid, gemischtes Anhydrid, aktivierter Ester, Aldehyd); zweier aminsubstituierter Ringe mit einer Dicarbonylverbindung (zum Beispiel Oxalylchlorid, Glutardialdehyd); zweier Ringe, die je eine nukleophile Gruppe aufweisen, mit einer zwei Fluchtgruppen tragenden Alkylverbindung oder im Falle terminaler Acetylene durch oxidative Kupplung (Cadiot, Chodkiewicz in Viehe "Acetylenes", 597-647, Marcel Dekker, New York, 1969).

Die die Ringe verknüpfende Kette kann anschließend durch Folgereaktionen modifiziert werden (zum Beispiel Hydrierung).

Als Substituenten $R^{1''}$ sind unter anderem Hydroxy- und Nitrobenzyl-, Hydroxy- und Carboxyalkyl- sowie Thioalkylreste mit bis zu 10 Kohlenstoffatomen geeignet. Sie werden nach dem Fachmann bekannten Literaturverfahren (Chem. Pharm. Bull. 33, 674 (1985), Compendium of Org. Synthesis Vol. 1-5, Wiley and Sons, Inc.) in

die gewünschten Substituenten (zum Beispiel mit der Amino-, Hydrazino-, Hydrazinocarbonyl-, Methacryloylhydrazinocarbonyl-, Maleimidamidocarbonyl-, Halogeno-, Halogenocarbonyl-, Mercaptogruppe als funktioneller Gruppe) umgewandelt, wobei im Falle des Nitrobenzylrestes zunächst eine katalytische Hydrierung (zum Beispiel nach P.N. Rylander, Catalytic Hydrogenation over Platinum Metals, Academic Press 1967) zum Aminobenzylderivat vorgenommen werden muß.

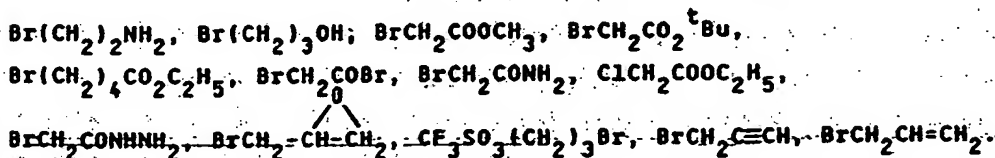
Beispiele für die Umwandlung von an aromatische oder aliphatische Reste gebundenen Hydroxy- oder Aminogruppen sind die in wasserfreien, aprotischen Lösungsmitteln wie Tetrahydrofuran, Dimethoxyethan oder Dimethylsulfoxid in Gegenwart eines Säurefängers wie zum Beispiel Natriumhydroxid, Natriumhydrid oder Alkali- oder Erdalkalicarbonaten wie zum Beispiel Natrium-, Magnesium-, Kalium- oder Calciumcarbonat bei Temperaturen zwischen 0 °C und dem Siedepunkt des jeweiligen Lösungsmittels, vorzugsweise jedoch zwischen 20 °C und 60 °C, durchgeführten Umsetzungen mit einem Substrat der allgemeinen Formel V

Nf-L-Fu

(V),

worin Nf für ein Nucleofug wie z.B. Cl, Br, J, $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3$, oder CF_3SO_3 , L für einen aliphatischen, aromatischen, arylaliphatischen, verzweigten, geradkettigen oder cyclischen Kohlenwasserstoffrest mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen und Fu für die gewünschte endständige funktionelle Gruppe, gegebenenfalls in geschützter Form, stehen (DE-OS 34 17 413).

Als Beispiele für Verbindungen der allgemeinen Formel V seien genannt



Umwandlungen von Carboxy-Gruppen können zum Beispiel nach der Carbodiimid-Methode (Fieser, Reagents for Organic Syntheses 10,142) über ein gemischtes Anhydrid [Org. Prep. Proc. Int. 7,215(1975)] oder über einen aktivierten Ester (Adv. Org. Chem. Part B, 472) durchgeführt werden.

Die Herstellung der als Ausgangssubstanzen für die Cyclisierung benötigten Amine erfolgt analog literaturbekannten Methoden

Ausgehend von einer N-geschützten Aminosäure erhält man durch Umsetzung mit einem partiell geschützten Diamin (zum Beispiel nach der Carbodiimidmethode), Abspaltung der Schutzgruppen und Diboranreduktion ein Triamin.

Die Umsetzung eines aus Aminosäuren erhältlichen Diamins (Eur. J. Med. Chem.-Chim. Ther. 21,333 (1986)) mit der doppelten molaren Menge einer N-geschützten ω -Aminosäure liefert ein Tetramin nach geeigneter Aufarbeitung.

In beiden Fällen ist die Anzahl der Kohlenstoffatome zwischen den N-Atomen durch die Art der als Kopplungspartner eingesetzten Diamine bzw. Aminosäuren bestimmbar.

Die so erhaltenen komplexbildenden Liganden (sowie die Komplexe) können auch an Bio- oder Makromoleküle geknüpft sein, von denen bekannt ist, daß sie sich in dem zu untersuchenden Organ oder Organteil besonders anreichern. Solche Makromoleküle sind beispielsweise Enzyme, Hormone, Zucker, Dextrane, Lektine, Porphyrine, Bleomycine, Insulin, Prostaglandine, Steroidhormone, Aminosucker, Aminosäuren, Peptide wie Polylysin, Proteine (wie zum Beispiel Immunglobulin und monoklonale Antikörper) oder Lipide (auch in Form von Liposomen). Besonders hervorzuheben sind Konjugate mit Albuminen, wie Humanserumalbumin, Antikörpern, wie zum Beispiel monoklonale für tumorassoziierte Antigene spezifische Antikörper, Antimyosin oder Cholsäure. Anstelle von Biomolekülen können auch geeignete synthetische Polymere wie Polyethylenimine, Polyamide, Polyharnstoffe, Polyether und Polythioharnstoffe angeknüpft werden. Die hieraus gebildeten pharmazeutischen Mittel eignen sich beispielsweise zur Anwendung in der Tumor- und Infarkt-Diagnostik sowie Tumorthherapie. Als monoklonale Antikörper (zum Beispiel Nature 256, 495, 1975), die gegenüber den polyklonalen Antikörpern die Vorzüge haben, daß sie spezifisch für eine antigene Determinante sind, eine definierte Bindungsaffinität besitzen, homogen sind (damit wird ihre Darstellung wesentlich einfacher) und die in Zellkulturen in großen Mengen herstellbar sind, kommen für die Konjugation insbesondere solche infrage, die gegen überwiegend zellmembranständige Antigene gerichtet sind. Als solche sind zum Beispiel für die Tumordarstellung monoklonale Antikörper bzw. deren Fragmente Fab und $F(ab')_2$ geeignet, die zum Beispiel spezifisch sind für humane Tumore des Gastrointestinaltraktes, der Brust, der Lunge, der Blase, der Kidneydrüsen und von Melan-

nomen (Cancer Treatment Repts. 68. 317. 1984. Bio Sci 34. 150. 1984) oder gegen Carcinoembryonales Antigen (CEA). Humanes Choriogonadotropin (h-HCG) der andere tumorständige Antigene, wie Glycoproteine, gerichtet sind. (New Engl. J. Med. 298. 1384. 1973. US-P 4.331.647). Geeignet sind unter anderem auch Anti-Myosin, Anti-Insulin- und Anti-Fibrin-Antikörper (US-P 4.036.945).

Für Leberuntersuchungen und die Gallenblasen-Diagnostik beziehungsweise für die Tumordiagnostik eignen sich sowohl die monomeren Komplexe als auch Konjugate oder Einschlußverbindungen mit Liposomen (die beispielsweise als unilamellare oder multilamellare Phosphatidylcholin-Cholesterol-Vesikel eingesetzt werden).

Die nach dem Stand der Technik bekannten Bindungen von zum Beispiel Radi isotopen an Immunglobuline und deren Fragmente sind mit dem Nachteil mangelnder Stabilität der markierten Antikörper-Konjugate bzw. mangelnder Spezifität (zum Beispiel infolge der Verwendung eines Diethylentriaminpentaessigsäure = DTPA-Anhydrids) behaftet (zum Beispiel Diagnostic Imaging 84. 56; Science 220. 613. 1983; Cancer Drug Delivery 1. 125. 1984).

Die Konjugatbildung gemäß vorliegender Erfindung erfolgt dagegen über die am Ende der C_0-C_{20} -Alkylengruppe des Substituenten R^1 sich befindliche funktionelle Gruppe, wie sie weiter oben definiert ist. Es können bei der Konjugatbildung der Säuren mit Bio- oder Makromolekülen mehrere Säurereste an dieses gebunden werden. In diesem Fall kann jeder Säurerest ein Zentralion tragen.

Die Kopplung an die gewünschten Makromoleküle erfolgt ebenfalls nach an sich bekannten Methoden, wie sie zum Beispiel in Rev. Roum. Morphol. Embryol. Physio., Physiologie 1981. 18. 241 und J. Pharm. Sci. 68. 79 (1979) beschrieben sind, beispielsweise durch Reaktion der nucleophilen Gruppe eines Makromoleküls, wie der Amino-, Phenol-, Sulfhydryl-, Aldehyd- oder Imidazol-Gruppe mit einem aktivierten Derivat des Komplexbildners. Als aktivierte Derivate kommen beispielsweise Monoanhydride, Säurechloride, Säurehydrazide, gemischte Anhydride (siehe zum Beispiel G.E. Krejcarek und K.L. Tucker, Biochem., Biophys. Res. Commun. 1977. 581), aktivierte Ester, Nitrene oder Isothiocyanate in Betracht. Umgekehrt ist es auch möglich, ein aktiviertes Makromolekül mit der Komplexbildenden Säure umzusetzen. Zur Konjugation mit Proteinen bieten sich auch Substituenten zum Beispiel der Struktur $C_6H_4N_2$, $C_6H_4NHCOCH_2$, C_6H_4NHCS oder $C_6H_4OCH_2CO$ an.

Im Falle der Antikörper-Konjugate darf die Bindung des Antikörpers an den Komplexbildner (bzw. an den Metallkomplex; die Herstellung des Metall-Komplex-Konjugats kann sowohl in der Reihenfolge Komplexbildner, Komplexbildner-Konjugat, Endprodukt als auch in der Reihenfolge Komplexbildner, Metall-Komplex, Endprodukt erfolgen) nicht zum Verlust oder zur Verminderung der Bindungsaffinität und Bindungsspezifität des Antikörpers zum Antigen führen. Dies kann entweder durch Bindung an den Kohlenhydrat-Anteil im Fc-Teil des Glycoproteins bzw. in den Fab oder F(ab')₂-Fragmenten oder durch Bindung an Schwefelatome des Antikörpers bzw. der Antikörper-Fragmente erfolgen.

Im ersten Fall muß zunächst eine oxidative Spaltung von Zuckereinheiten zur Generation kopplungsfähiger Formylgruppen durchgeführt werden. Diese Oxidation kann auf chemischem Wege mit Oxidationsmitteln wie zum Beispiel Perjodsäure, Natriummetaperjodat oder Kaliummetaperjodat nach literaturbekannten Methoden (zum Beispiel J. Histochem and Cytochem. 22, 1084, 1974) in wässriger Lösung in Konzentrationen von 1 bis 100, vorzugsweise 1 bis 20 mg/ml, und einer Konzentration des Oxidationsmittels zwischen 0,001 bis 10 mMol, vorzugsweise 1 bis 10 mMol in einem pH-Bereich von ca. 4 bis 8 bei einer Temperatur zwischen 0 bis 37°C und einer Reaktionsdauer zwischen 15 Minuten und 24 Stunden vorgenommen werden. Auch auf enzymatischem Wege kann die Oxidation, beispielsweise mit Hilfe von Galaktoseoxidase in einer Enzymkonzentration von 10-100 Einheiten/ml, einer Substratkonzentration von 1 bis 20 mg/ml, bei einem pH-Wert von 5 bis 8, einer Reaktionsdauer von 1 bis 8 Stunden und einer Temperatur zwischen 20 und 40 °C, durchgeführt werden (zum Beispiel J. Biol. Chem. 234, 445, 1959).

An die durch Oxidation generierten Aldehyde werden Komplexbildner (oder Metallkomplexe, siehe oben) mit geeigneten funktionellen Gruppen wie zum Beispiel Hydrazin, Hydrazid, primäres Amin, Hydroxylamin, Phenylhydrazin, Semicarbazid und Thiosemicarbazid durch Reaktion zwischen 0 - 37 °C, bei einer Reaktionsdauer von 1 bis 65 Stunden, einem pH-Wert zwischen ca. 5,5 und 8, einer Antikörperkonzentration von 0,5 bis 20 mg/ml und einem molaren Verhältnis des Komplexbildners zum Antikörperaldehyden von 1:1 bis 1000:1 gebunden. Die anschließende Stabilisierung des Konjugates erfolgt durch Reduktion der Doppelbindung, z.B. mit Natriumborhydrid oder Natriumcyanborhydrid; das Reduktionsmittel wird dabei in einem 10 bis 100fachen Überschuß verwendet (zum Beispiel J. Biol. Chem. 254, 4359, 1979).

ERSATZBLATT

Die zweite Möglichkeit der Bildung von Antikörper-Konjugaten geht aus von einer schonenden Reduktion der Disulfid-Brücken des Immunoglobulin-Moleküls; hierbei werden die empfindlicheren Disulfid-Brücken der H-Ketten des Antikörper-Moleküls gespalten, während die S-S-Bindungen der Antigen-bindenden Region intakt bleiben, so daß praktisch keine Verminderung der Bindungsaffinität und -spezifität des Antikörpers eintritt (Biochem. 18, 2226, 1979, Handbook of Experimental Immunology, Vol. 1, Second Edition, Blackwell Scientific Publications, London, 1973, Chapter 10). Diese freien Sulfhydryl-Gruppen der intra-H-Ketten Regionen werden dann mit geeigneten funktionellen Gruppen von Komplexbildnern oder Metallkomplexen bei 0 bis 37 °C, einem pH-Wert von ca. 4 bis 7, und einer Reaktionsdauer von 3 bis 72 Stunden unter Ausbildung einer kovalenten Bindung, die die Antigen-Bindungsregion des Antikörpers nicht beeinflusst, umgesetzt. Als geeignete reaktive Gruppen seien beispielsweise genannt: Halogenalkyl-, Halogenacetyl-, p-Mercuribenzoatgruppen sowie Gruppen, die einer Michael-Additions-Reaktion, wie zum Beispiel Maleinimide, Methacrylogruppen (zum Beispiel J. Amer. Chem. Soc. 101, 3097, 1979), zu unterwerfen sind.

Es können auch Bindungen nicht-kovalenter Art zur Kopplung genutzt werden, wobei sowohl ionische als auch van der Waals- und Wasserstoffbrücken-Bindungen in wechselnden Anteilen und Stärke (Schlüssel-Schloß-Prinzip) zur Bindung beitragen können (zum Beispiel Avidin-Biotin, Antikörper-Antigen). Auch Einschlußverbindungen (host-guest) kleinerer Komplexe in größere Cavitäten beim Makromolekül sind möglich.

Das Kopplungsprinzip besteht darin, zunächst ein bifunktionelles Makromolekül herzustellen, indem man entweder ein gegen ein Tumorantigen gerichtetes Antikörper-Hybridom mit einem gegen einen erfindungsgemäßen Komplex gerichteten zweiten Antikörper-Hybridom fusioniert oder die beiden Antikörper chemisch über einen Linker (beispielsweise in der im J. Amer. Chem. Soc. 101, 3097 (1979) angegebenen Weise) miteinander verknüpft oder den gegen das Tumorantigen gerichteten Antikörper, gegebenenfalls über einen Linker, an Avidin (bzw. Biotin) bindet (D.J. Hnatowich et al., J. Nucl. Med. 28, 1294 (1987)). Anstelle der Antikörper können auch ihre entsprechenden F(ab)-bzw. F(ab')₂-Fragmente verwendet werden. Für die pharmazeutische Anwendung injiziert man zunächst das bifunktionelle Makromolekül, das sich am Zielort anreichert, und dann im zeit-

lichen Abstand die erfindungsgemäße Komplexverbindung [gegebenenfalls an Bi tin (bzw. Avidin) gebunden], die in-vivo am Zielort angekoppelt wird und dort ihre diagnostische oder therapeutische Wirkung entfalten kann. Darüberhinaus können sich auch andere Kopplungsmethoden wie beispielsweise das in Protein Tailoring Food Med. Uses [Am. Chem. Soc. Symp.] (1985), 349, beschriebene "Reversible Radiolabeling" zur Anwendung kommen.

Eine zur Herstellung von Konjugaten von sowohl Antikörper- als auch Antikörperfragmenten besonders gut geeignete Methode ist die Kopplung an einer Festphase. Hierbei wird der Antikörper oder das entsprechende F(ab)₂-Fragment an eine stationäre Phase (zum Beispiel einen Ionenaustauscher) gebunden, die sich in einer temperierbaren mit Zu- und Abfluß versehenen Säule befindet. Zur Oxidation im Fc-Teil des Antikörpers muß die Säule durch Umhüllung vor Lichteinfall geschützt werden; zur Reduktion von Disulfidbrücken (zum Beispiel bei der Generierung von Fab-Fragmenten) muß unter Argon als Schutzgas gearbeitet werden können. Der eigentliche Kopplungsvorgang verläuft dann wie folgt:

Nach Spülen der Säule mit einem geeigneten Puffer wird als Eluent eine Lösung eingesetzt, die reaktive Gruppen am gebundenen Protein erzeugt (zum Beispiel Perjodat-Lösung zur Erzeugung von Aldehyd-Gruppen im Fc-Teil von monoklonalen Antikörpern oder Mercaptoethylamin-Lösung zur Herstellung von Sulfhydrylgruppen in Fragmenten). Nachdem die Reaktionslösung den vorherigen Eluenten vollständig verdrängt hat, stoppt man den Durchfluß für eine zur vollständigen Umsetzung ausreichende Zeit, spült anschließend ausreichend mit Puffer, zieht dann in Lösung mit dem Kopplungspartner (zum Beispiel dem Hydrazid oder Dithiopyridyl-Derivat eines Komplexbildners oder eines Komplexes) auf und stoppt den Durchfluß wieder ausreichend lange. Statt den Durchfluß für längere Zeit zu stoppen, kann man auch eine sogenannte recycle-Schaltung verwenden; hierbei wird das die Säule verlassende Eluat mittels einer Schleifenschaltung direkt wieder auf die Säule gepumpt. Man erzielt hierbei wegen der besseren Durchmischung wesentlich kürzere Reaktionszeiten und bessere Ausbeuten. Danach folgt wieder eine Spülung mit Puffer-Lösung. Ist ein freier Komplexbildner der Kopplungspartner, wird in einem weiteren Zyklus mit einer Lösung des gewünschten Metallsalzes (zum Beispiel einer Citratlösung) sowie anschließendem Spülgang kompliziert. Schließlich eluiert man das Konjugat mit einem pH- oder Salzgradienten.

enten. Anschließend wird, gegebenenfalls nach Entsalzen, lyophilisiert. Nach Äquilibrieren mit Pufferlösung ist die Säule für den nächsten Kopplungsgang bereit.

Diese Methode ist sowohl zur Darstellung sehr kleiner als auch sehr großer Mengen an Konjugat den herkömmlichen Verfahren sowohl in Geschwindigkeit als auch an Ausbeute weit überlegen und erlaubt auch die kontinuierliche Herstellung von Konjugaten; dies ist die Voraussetzung für eine wirtschaftliche Produktion größerer Mengen.

Die so gebildeten Verbindungen werden anschließend vorzugsweise chromatographisch über Ionenaustauscher auf einer Fast-Protein-Liquid-Chromatography-Anlage gereinigt.

Die so erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel I mit Y in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms stellen Komplexbildner dar. Sie können isoliert und gereinigt werden oder ohne Isolierung in Metallkomplexe der allgemeinen Formel I mit mindestens zwei der Substituenten Y in der Bedeutung eines Metallion äquivalents überführt werden.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Metallkomplexe erfolgt in der Weise, wie sie in der Patentschrift DE-OS 34 01 052 offenbart worden ist, indem man das Metalloxid oder ein Metallsalz (beispielsweise das Nitrat, Acetat, Carbonat, Chlorid oder Sulfat) des Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 38, 39, 42-44, 49, 57-83 in Wasser und/oder einem niederen Alkohol (wie Methanol, Ethanol oder Isopropanol) löst oder suspendiert und mit der Lösung oder Suspension der äquivalenten Menge der komplexbildenden Säure der allgemeinen Formel I mit Y in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms umsetzt und anschließend, falls gewünscht, vorhandene azide Wasserstoffatome von Säuregruppen durch Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren substituiert.

Die Neutralisation erfolgt dabei mit Hilfe anorganischer Basen (zum Beispiel Hydroxiden, Carbonaten oder Bicarbonaten) von zum Beispiel Natrium, Kalium oder Lithium und/oder organischer Basen wie unter anderem primärer, sekundärer und tertiärer Amine, wie zum Beispiel Ethanolamin, Morpholin, Glucamin, N-Methyl- und N,N-Dimethylglucamin, sowie basische Aminosäuren, wie zum Beispiel Lysin, Arginin und Ornithin.

Zur Herstellung der neutralen Komplexverbindungen kann man beispielsweise die sauren Komplexsalze in wässriger Lösung oder Suspension so viel der gewünschten Basen zusetzen, daß der Neutralpunkt erreicht wird. Die erhaltene Lösung kann anschließend im Vakuum zur Trockne eingedunstet werden. Häufig ist es vorteilhaft, die gebildeten Neutralsalze durch Zugabe von mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln, wie zum Beispiel niederen Alkoholen (Methanol, Ethanol, Isopropanol und anderen), niederen Ketonen (Aceton und andere), polaren Ethern (Tetrahydrofuran, Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan und andere) auszufällen und so leicht zu isolierende und gut zu reinigende Kristallisate zu erhalten. Als besonders vorteilhaft hat es sich erwiesen, die gewünschte Base bereits während der Komplexbildung der Reaktionsmischung zuzusetzen und dadurch einen Verfahrensschritt einzusparen.

Enthalten die sauren Komplexverbindungen mehrere freie azide Gruppen, so ist es oft zweckmäßig, neutrale Mischsalze herzustellen, die sowohl anorganische als auch organische Kationen als Gegenionen enthalten.

Dies kann beispielsweise geschehen, indem man die komplexbildende Säure in wässriger Suspension oder Lösung mit dem Oxid oder Salz des das Zentralion liefernden Elements und der Hälfte der zur Neutralisation benötigten Menge einer organischen Base umsetzt, das gebildete Komplexsalz isoliert, es gegebenenfalls reinigt und dann zur vollständigen Neutralisation mit der benötigten Menge anorganischer Base versetzt. Die Reihenfolge der Basenzugabe kann auch umgekehrt werden.

Die Konjugate aus Antikörper und Komplex werden vor der in-vivo Anwendung nach Inkubation mit einem schwachen Komplexbildner, wie zum Beispiel Natriumcitrat, Natrium-Ethylendiamintetraessigsäure dialysiert, um schwachgebundene Metallatome zu entfernen.

Im Falle der Verwendung von Radioisotope enthaltenden Komplexverbindungen kann deren Herstellung nach den in "Radiotracers for Medical Applications", Volume 1, CRC-Press, Boca Raton, Florida beschriebenen Methoden vorgenommen werden.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel erfolgt ebenfalls in an sich bekannter Weise, indem man die erfindungsgemäßen Komplexverbindungen - gegebenenfalls unter Zugabe der in der Galenik üblichen Zusätze - in wäßrigem Medium suspendiert oder löst und anschließend die Suspension oder Lösung gegebenenfalls sterilisiert. Geeignete Zusätze sind beispielsweise physiologisch unbedenkliche Puffer (wie zum Beispiel Tromethamin), geringe Zusätze von Komplexbildnern (wie zum Beispiel Diethylentriaminpentaessigsäure) oder, falls erforderlich, Elektrolyte wie zum Beispiel Natriumchlorid oder, falls erforderlich, Antioxidantien wie zum Beispiel Ascorbinsäure.

Sind für die enterale Verabreichung oder andere Zwecke Suspensionen oder Lösungen der erfindungsgemäßen Mittel in Wasser oder physiologischer Salzlösung erwünscht, werden sie mit einem oder mehreren in der Galenik üblichen Hilfsstoffen (zum Beispiel Methylcellulose, Lactose, Mannit) und/oder Tensid(en) (zum Beispiel Lecithine, Tween^(R), Myrj^(R) und/oder Aromastoff(en) zur Geschmackskorrektur (zum Beispiel ätherischen Ölen) gemischt.

Prinzipiell ist es auch möglich, die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel auch ohne Isolierung der Komplexsalze herzustellen. In jedem Fall muß besondere Sorgfalt darauf verwendet werden, die Chelatbildung so vorzunehmen, daß die erfindungsgemäßen Salze und Salzlösungen praktisch frei sind von nicht komplexierten toxisch wirkenden Metallionen.

Dies kann beispielsweise mit Hilfe von Farbindikatoren wie Xylenolorang durch Kontrolltitrationen während des Herstellungsprozesses gewährleistet werden. Die Erfindung betrifft daher auch Verfahren zur Herstellung der Komplexverbindungen und ihrer Salze. Als letzte Sicherheit bleibt eine Reinigung des isolierten Komplexsalzes.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel enthalten vorzugsweise $1 \mu\text{Mol} - 1 \text{ Mol/l}$ des Komplexsalzes und werden in der Regel in Mengen von $0,001 - 5 \text{ mmol/kg}$ dosiert. Sie sind zur enteralen und parenteralen Applikation bestimmt.

Die erfindungsgemäßen Komplexverbindungen kommen zur Anwendung

-22-

1. für die NMR- und Röntgen-Diagnostik in Form ihrer Komplexe mit den Ionen der Elemente mit den Ordnungszahlen 21-29, 42, 44 und 57-83;
2. für die Radiodiagnostik und Radiotherapie in Form ihrer Komplexe mit den Radioisotopen der Elemente mit den Ordnungszahlen 27, 29, 31, 32, 38, 39, 43, 49, 62, 64, 70 und 77.

Die erfindungsgemäßen Mittel erfüllen die vielfältigen Voraussetzungen für die Eignung als Kontrastmittel für die Kernspintomographie. So sind sie hervorragend dazu geeignet, nach oraler oder parenteraler Applikation durch Erhöhung der Signalintensität das mit Hilfe des Kernspintomographen erhaltene Bild in seiner Aussagekraft zu verbessern. Ferner zeigen sie die hohe Wirksamkeit, die notwendig ist, um den Körper mit möglichst geringen Mengen an Fremdstoffen zu belasten und die gute Verträglichkeit, die notwendig ist, um den nichtinvasiven Charakter der Untersuchungen aufrechtzuerhalten.

Die gute Wasserlöslichkeit der erfindungsgemäßen Mittel erlaubt es hochkonzentrierte Lösungen herzustellen, damit die Volumenbelastung des Kreislaufs in vertretbaren Grenzen zu halten und die Verdünnung durch die Körperflüssigkeit auszugleichen, das heißt NMR-Diagnostika müssen 100 - 1000fach besser wasserlöslich sein als für die NMR-Spektroskopie. Weiterhin weisen die erfindungsgemäßen Mittel nicht nur eine hohe Stabilität in-vitro auf, sondern auch eine überraschend hohe Stabilität in-vivo, so daß eine Freigabe oder ein Austausch der in den Komplexen nicht kovalent gebundenen - an sich giftigen - Ionen innerhalb der Zeit, in der die neuen Kontrastmittel vollständig wieder ausgeschieden werden, nur äußerst langsam erfolgt.

Im allgemeinen werden die erfindungsgemäßen Mittel für die Anwendung als NMR-Diagnostika in Mengen von 0,001 - 5 mmol/kg, vorzugsweise 0,005 - 0,5 mmol/kg, dosiert. Details der Anwendung werden zum Beispiel in H.J. Weinmann et al., Am. J. of Roentgenology 142, 619 (1984) diskutiert.

Besonders niedrige Dosierungen (unter 1 mg/kg Körpergewicht) von organspezifischen NMR-Diagnostika sind zum Beispiel zum Nachweis von Tumoren und von Herzinfarkt einsetzbar.

Ferner können die erfindungsgemäßen Komplexverbindungen vorteilhaft als Suszeptibilitäts-Reagenzien und als shift-Reagenzien für die in-vivo NMR-Spektroskopie verwendet werden.

Die erfindungsgemäßen Mittel sind aufgrund ihrer günstigen radioaktiven Eigenschaften und der guten Stabilität der in ihnen enthaltenen Komplexverbindungen auch als Radiodiagnostika geeignet. Details ihrer Anwendung und Dosierung werden z.B. in "Radiotracers for Medical Applications", CRC-Press, Boca Raton, Florida beschrieben.

Eine weitere bildgebende Methode mit Radioisotopen ist die Positronen-Emissions-Tomographie, die positronenemittierende Isotope wie z.B. ^{43}Sc , ^{44}Sc , ^{52}Fe , ^{55}Co und ^{68}Ga verwendet. (Heiss, W.D., Phelps, M.E., Positron Emission Tomography of Brain, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1983).

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können auch in der Radioimmunotherapie verwendet werden. Diese unterscheidet sich von der entsprechenden Diagnostik nur durch die Menge und Art des verwendeten radioaktiven Isotops. Ziel ist dabei die Zerstörung von Tumorzellen durch energiereiche kurzwellige Strahlung mit einer möglichst geringen Reichweite. Die Spezifität des verwendeten Antikörpers ist dabei von entscheidender Bedeutung, da unspezifisch lokalisierte Antikörperkonjugate zur Zerstörung von gesundem Gewebe führen.

Der Antikörper bzw. das Antikörper-Fragment des erfindungsgemäßen Antikörper-Metall-Komplexes dient dazu, den Komplex immunspezifisch für das betreffende Antigen an das Zielorgan zu transportieren, wo das wegen seiner zelltötenden Eigenschaften ausgewählte Metallion Strahlen emittieren kann, die die Zellen lethal schädigen. Geeignete β -emittierende Ionen sind, zum Beispiel ^{46}Sc , ^{47}Sc , ^{48}Sc , ^{72}Ga und ^{73}Ga . Geeignete geringe Halbwertszeiten aufweisende α -emittierende Ionen sind zum Beispiel ^{211}Bi , ^{212}Bi , ^{213}Bi und ^{214}Bi , wobei ^{212}Bi bevorzugt ist. Ein geeignetes Photonen- und Elektronen-emittierendes Ion ist ^{158}Gd , das aus ^{157}Gd durch Neutroneneinfang erhalten werden kann.

Bei der in-vivo-Applikation der erfindungsgemäßen therapeutischen Mittel können dies zusammen mit einem geeigneten Träger wie zum Beispiel Serum oder

physiologischer Kochsalzlösung und zusammen mit einem anderen Protein wie zum Beispiel Human Serum Albumin verabreicht werden. Die Dosierung ist dabei abhängig von der Art der zellulären Störung, dem benutzten Metallion und der Art der bildgebenden Methode.

Die erfindungsgemäßen therapeutischen Mittel werden parenteral, vorzugsweise i.V. appliziert.

Details der Anwendung von Radiotherapeutika werden z. B. in R.W. Kozak et al., TIBTEC, Oktober 1986, 262 diskutiert.

Die erfindungsgemäßen Mittel sind hervorragend als Röntgenkontrastmittel geeignet, wobei besonders hervorzuheben ist, daß sich mit ihnen keine Anzeichen der von den jodhaltigen Kontrastmitteln bekannten anaphylaxieartigen Reaktionen in biochemisch-pharmakologischen Untersuchungen erkennen lassen. Besonders wertvoll sind sie wegen der günstigen Absorptionseigenschaften in Bereichen höherer Röhrenspannungen für digitale Substraktionstechniken.

Im allgemeinen werden die erfindungsgemäßen Mittel für die Anwendung als Röntgenkontrastmittel in Analogie zu zum Beispiel Meglumin-Diatrizoat in Mengen von 0,1 - 5 mmol/kg, vorzugsweise 0,25 - 1 mmol/kg, dosiert.

Details der Anwendung von Röntgenkontrastmitteln werden zum Beispiel in Barke, Röntgenkontrastmittel, G. Thieme, Leipzig (1970) und P. Thurn, E. Bücheler - "Einführung in die Röntgendiagnostik", G. Thieme, Stuttgart, New York (1977) diskutiert.

Insgesamt ist es gelungen, neue Komplexbildner, Metallkomplexe und Metallkomplexsalze zu synthetisieren, die neue Möglichkeiten in der diagnostischen und therapeutischen Medizin erschließen. Vor allem die Entwicklung neuartiger bildgebender Verfahren in der medizinischen Diagnostik läßt diese Entwicklung wünschenswert erscheinen.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I können auch als Haptene zur Herstellung von Antikörpern benutzt werden. Details der Anmeldung von Haptenen zur Herstellung von Antikörpern werden z. B. in S. Sell, Immunology, Immunopathology and Immunity, 372, Harper and Row Publ., 3rd ed. beschrieben.

Die nachfolgenden Beispiele dienen zur näheren Erläuterung des Erfindungsgegenstandes.

BEISPIEL 1

a) O-Benzyl-N-trifluoracetyltyrosin

112,5 g (0,41 mMol) O-Benzyltyrosin werden in 1 l trockenem Methanol suspendiert und bei Raumtemperatur mit 58,9 ml (0,42 Mol) Triethylamin versetzt. Nach Zugabe von 67 ml (0,53 Mol) Trifluoressigsäureethylester wird 130 Stunden bei Raumtemperatur unter Wasserausschluß gerührt. Man trennt von unumgesetzten Ausgangsmaterial ab und entfernt flüchtige Komponenten durch Schütteln mit Essigester/wäßriger Salzsäure. Die Essigesterphase wird mit Aktivkohle entfärbt. Nach Verdampfen der Lösungsmittel erhält man 120,7 g (80% der Theorie) farbloser Kristalle.

Schmelzpunkt: 149-150°C

Analyse:

Ber.: C 58,85 H 4,39 N 3,81 O 17,42 F 15,51

Gef.: C 58,78 H 4,29 N 3,79 F 15,57

b) O-Benzyl-N-trifluoracetyltyrosin-(2-carbobenzoxaminoethylen)-amid

18,5 g (50,4 mMol) O-Benzyl-N-trifluoracetyltyrosin (Beispiel 1a) werden in 200 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst, mit 7 ml Et₃N versetzt und dann tropfenweise 4,8 ml (50,8 mMol) Chlorameisensäureethylester zugefügt, wobei die Temperatur auf unter -10°C gehalten wird. Nach Beendigung der Zugabe wird 30 Minuten bei dieser Temperatur gerührt, nochmals mit der gleichen Menge vorgekühltem Triethylamin versetzt und eine eiskalte Lösung von 11,6 g (50,4 mMol) N-(2-Aminoethyl)-carbaminsäurebenzylester-hydrochlorid in 100 ml Dimethylformamid zugetropft. Man rührt noch 30 Minuten bei -10°C, läßt dann unter Rühren auf Raumtemperatur kommen und erwärmt dann 10 Minuten auf 30°C. Danach entfernt man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und gießt auf 750 ml Eiswasser. Das Kristallisat wird abgesaugt, mit Eiswasser gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute beträgt 26,9 g (94% der Theorie).

Schmelzpunkt: 189-190°C

Analyse: Ber.: C 61,87 H 5,19 N 7,73 O 14,71 F 10,48

Gef.: C 61,90 H 5,08 N 7,77 F 10,43

c) O-Benzyltyrosin-(2-carbobenzoxyminoethylen)-amid

25,9 g (47,8 mmol) O-Benzyl-N-trifluoracetyltyrosin-(2-carbobenzoxyminoethylen)-amid (Beispiel 1b) werden in 300 ml EtOH suspendiert und portionsweise mit 7,2 g (191 mmol) Natriumborhydrid versetzt. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur wird mit 50 ml Aceton versetzt und mehrmals mit Essigester extrahiert. Die organische Phase liefert nach Trocknen und Eindampfen 18,8 g (88% der Theorie) weißer Kristalle vom Schmelzpunkt 145°C.

Analyse: Ber.: C 69,77 H 6,53 N 9,38 O 14,29

Gef.: C 69,79 H 6,53 N 9,35

d) Tyrosin-(2-aminoethylen)-amid

42,3 g (96,4 mmol) O-Benzyltyrosin-(2-carbobenzoxyminoethylen)-amid (Beispiel 1c) löst man in 1,1 l Methanol, fügt 2 g 10% Palladium-Kohle zu und hydriert unter Rühren bis keine weitere Wasserstoffaufnahme mehr erfolgt. Der Katalysator wird abfiltriert und das Lösungsmittel abgedampft. Man löst in der Hitze in Methanol und fällt mit Ether: 17 g (86% der Theorie) farblose Kristalle.

Schmelzpunkt: 138-141°C

Analyse: Ber.: C 59,17 H 7,67 N 18,81 O 14,33

Gef.: C 59,23 H 7,51 N 18,90

e) 3-Aza-1-(4-hydroxybenzyl)-pentan-1,5-diamin .Trihydrochlorid

6,55 g (29,3 mmol) Tyrosin-(2-aminoethylen)-amid (Beispiel 1d) werden in 130 ml trockenem Tetrahydrofuran suspendiert und ein langsamer Strom von B_2H_6 (aus 5,8 g $NaBH_4$ in 75 ml Diethylenglykoldimethylether und 54 ml 80% Trifluorid-Etherat-Komplex) mit trockenem Stickstoff unter stetigem Rühren durch die Lösung getrieben. Man rührt über Nacht bei 60°C, tropft danach bei 20°C 30 ml Methanol zu und leitet unter Eiskühlung Chlorwasserstoff ein. Man kocht danach kurz auf und saugt ab. Das Trihydrochlorid wird in Form farbloser Kristalle (8,04 g; 86% der Theorie) erhalten.

Schmelzpunkt: 250°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 41,45 H 6,95 N 13,18 O 5,02 Cl 33,37

Gef.: C 41,37 H 6,89 N 13,14 Cl 33,51

f) 3-Aza-1-(4-hydroxybenzyl)-1,3,5-tri-tosyl-pentan-1,5-diamin

24,0 g (75,3 mMol) 3-Aza-1-(4-hydroxybenzyl)-pentan-1,5-diamin (als Trihydrochlorid) werden in 250 ml trockenem Pyridin vorgelegt und bei 0°C unter gutem Rühren 37,9 g (198,7 mMol) Tosylchlorid, gelöst in 100 ml Pyridin, über eine Stunde zugetropft. Man läßt über Nacht bei 4°C stehen, dampft den Hauptteil des Pyridins im Vakuum ab und nimmt in 300 ml Dichlormethan auf. Durch mehrmaliges Waschen mit verdünnter Salzsäure, wäßriger Bicarbonatlösung und bidestilliertem Wasser entfernt man restliches Pyridin und überschüssige Toluolsulfonsäure. Nach Trocknen wird an Kieselgel mit Essigester-Hexan chromatographiert. Man erhält das Tritosylat in Form farbloser Kristalle. Ausbeute 36,9 g (73% der Theorie)

Schmelzpunkt: 145-146°C

Analyse: Ber.: C 57,20 H 5,55 N 6,25 O 16,66 S 14,31

Gef.: C 57,15 H 5,32 N 6,24 S 14,20

g) 2-(4-Hydroxybenzyl)-1,4,7,10-tetra-tosyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

10,95 g (16,3 mMol) 3-Aza-1-(4-hydroxybenzyl)-1,3,5-tri-tosyl-pentan-1,5-diamin werden in 100 ml Dimethylformamid gelöst und mit 1,35 g (45 mMol) Natriumhydrid (80% in Paraffin) 30 Minuten bei 35-40°C gerührt. Danach versetzt man langsam mit einer Lösung von 9,51 g (16,3 mMol) 3-Aza-1,3,5-tri-tosyl-1,5-dihydroxypentan in 100 ml DMF. Man rührt vier Stunden bei 130°C, läßt über Nacht erkalten und destilliert das Lösungsmittel ab. Der Rückstand kristallisiert beim Verreiben mit wenig Methanol. Nach Waschen mit verdünnter Salzsäure und Umkristallisieren aus Acetonitril erhält man 7,4 g (48% der Theorie) farblose Kristalle vom Schmelzpunkt 192-193°C.

Analyse: Ber.: C 53,84 H 5,25 N 5,84 O 21,68 S 13,37

Gef.: C 53,66 H 5,17 N 5,81 S 13,30

h) 2-(4-Hydroxybenzyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan . Trihydrobromid

12,0 g (12,7 mMol) 2-(4-Hydroxybenzyl)-1,4,7,10-tetra-tosyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan werden in 50 ml Eisessig mit 33% Bromwasserstoff vier Stunden auf 100°C erhitzt. Man gießt in 300 ml Diethylether, saugt ab und resuspendiert zweimal in jeweils 300 ml Diethylether. Alle Operationen werden unter Stickstoffschutzatmosphäre durchgeführt. Nach dem Trocknen im Vakuum liegen 5,16 g (76% der Theorie) farbloser Kristalle vor, die bei 115-117°C unter Zersetzung schmelzen.

Analyse: Ber.: C 34,57 H 5,60 N 10,75 O 3,07 Br 45,99

Gef.: C 34,75 H 5,61 N 10,77 Br 45,64

i) 2-(4-Hydroxybenzyl)-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxy-carbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

8,49 g (16,3 mMol) 2-(4-Hydroxybenzyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan als Trihydrobromid werden in 150 ml Dimethylformamid suspendiert, mit 9,66 g (115 mMol) Natriumhydrogencarbonat versetzt und bei 60°C mit einer Lösung von 12,7 g (65,2 mMol) Bromessigsäure-tert.-butylester in 100 ml DMF versetzt. Nach 2 Stunden Rühren bei dieser Temperatur wird das Lösungsmittel abgezogen und der ölige Rückstand an Kieselgel mit Ether/Hexan chromatographiert. Man erhält ein farbloses viskoses Öl. Ausbeute 9,0 g (79%)

Analyse: Ber.: C 63,73 H 9,05 N 7,62 O 19,59

Gef.: C 63,70 H 8,97 N 7,50

j) 2-(4-Hydroxybenzyl)-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

1,66 g (2,38 mMol) 2-(4-Hydroxybenzyl)-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan werden in 50 ml Trifluoressigsäure 2 Stunden bei 35°C gerührt. Anschließend gießt man in 250 ml trockenen Ether, saugt ab, schlämmt mehrmals mit Ether auf und trocknet 24 Stunden bei 50°C im Vakuum. Nach Umkristallisieren aus Dichlormethan/Tetrahydrofuran erhält man 1,13 g (93%) farbloser Kristalle.

Schmelzpunkt: 238°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 54,10 H 6,71 N 10,97 O 28,20

Gef.: C 54,17 H 6,52 N 10,93

Gadolinium-Komplex

Man löst 6,28 mg (12,3 mMol) des Komplexbildners in 20 ml 0,1 N Ammonacetat-Lösung und versetzt mit 12,5 ml einer 0,9857 n Gadoliniumacetat-Lösung. Man erhöht den pH-Wert mit verdünnter Ammoniaklösung auf 7,5 und erhitzt 30 Minuten auf 80°C. Nach Zentrifugieren wird der Überstand gefriergetrocknet. Man erhält 8,1 g des Komplexes (99%) als weißes Pulver.

Analyse: Ber.: C 41,55 H 4,70 N 8,42 O 21,66 Gd 23,65

Gef.: C 41,35 H 4,83 N 8,50 Gd 23,52

Natriumsalz des Gd-Komplexes

3,78 g (5,69 mMol) des Komplexes werden in 25 ml Wasser gelöst, mit 10,6 ml einer 1,073 n-Natronlauge versetzt und gefriergetrocknet. Es hinterbleiben 4,03 g (quantitativ) eines weißen Pulvers.

Analyse: Ber.: C 38,97 H 4,12 N 7,9 O 20,31 Gd 22,18 Na 6,48

Gef.: C 38,80 H 4,22 N 7,81 Gd 22,1 Na 6,35

N-Methylglucaminsalz des Gd-Komplexes

2,0 g (3,0 mMol) des Komplexes werden zusammen mit 1,17 g (6,0 mMol) N-Methylglucamin, in 100 ml Wasser gelöst, filtriert und gefriergetrocknet. Es bleiben 3,1 g (98%) farblose Kristalle zurück.

Analyse: Ber.: C 42,11 H 6,2 N 7,96 O 28,8 Gd 14,9

Gef.: C 41,98 H 6,33 N 7,92 Gd 15,01

Statt Gadoliniumacetat können auch andere Salze des Gadoliniums oder Gadolinumoxid verwendet werden, falls die jeweiligen Gegenionen flüchtige Ammoniumverbindungen bilden.

Durch Verwendung entsprechender Salze oder Oxide anderer Metalle wie zum Beispiel Mn(II); Co(III); Cu(II); Dy; La; Y; Sm; Ho; Yb; Bi; Fe(III) oder Pb erhält man deren Komplexe und Komplexsalze.

Anstelle von 3-Aza-1-(4-hydroxybenzyl)-1,3,5-tritoxyl-pentan-1,5-diamin (Beispiel 1f) kann man auch das entsprechende 2-(4-Hydroxybenzyl)-Isomere einsetzen das auf folgendem Wege herstellbar ist:

α) 3-Aza-2-(4-benzyloxybenzyl)-4-oxoglutarsäurediamid (Methode A)

3,62g (13,3 mMol) O-Benzyltyrosinamid werden mit 2,7 g Ethyloxamat (23 mMol) 14 Stunden in Dimethoxyethan am Rückfluß gekocht. Nach Abziehen des Lösungsmittels wäscht man sukzessive mit Wasser, Ethanol und Ether. Nach Trocknen erhält man 2,73 g weißer Kristalle (60% der Theorie).

Schmelzpunkt: 270°C

Analyse: Ber.: C 63,33 H 5,61 N 12,30 O 18,74

Gef.: C 63,24 H 5,52 N 12,14

oder nach Methode B

α 1) 3-Aza-2-(4-benzyloxybenzyl)-4-oxoglutarsäure-5-ethylester-1-amid

3 g (11,1 mMol) O-Benzyltyrosinamid werden in 30 ml Dimethoxyethan gelöst, mit 1,56 ml Triethylamin versetzt und bei 0°C 1,53 g (11,1 mMol) Oxalsäure-ethylesterchlorid zugetropft. Nach 30 Minuten bei 0°C gießt man auf 100 ml Eis, saugt ab und trocknet. Die Ausbeute beträgt 3,87 g (94% der Theorie)

Schmelzpunkt: 142°C

Analyse: Ber.: C 64,85 H 5,98 N 7,56 O 21,59

Gef.: 64,71 H 6,11 N 7,46

α 2) 3,6 g (9,72 mMol) 3-Aza-2-(4-benzyloxybenzyl)-1-oxoglutarsäure-5-ethyl-ester-1-amid (Beispiel α 1) werden mit 40 ml einer Lösung von 1 Mol NH_3 /l Methanol übergossen. Nach 1 Stunde filtriert man das ausgefallene Produkt ab. Nach Trocknen werden 3,13 g (95% der Theorie) der Titelverbindung in Form farbloser Kristalle erhalten.

Schmelzpunkt: 269°C

Analyse: Ber.: C 63,33 H 5,61 N 12,30 O 18,74

Gef.: C 63,25 H 5,63 N 12,17

β) 3-Aza-2-(4-hydroxybenzyl)-4-oxoglutar säurediamid

1 g (2,9 mMol) 3-Aza-2-(4-benzyloxybenzyl)-4-oxoglutar säurediamid (Beispiel 1 α) wird mit 100 mg 10% Palladium-Kohle und einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure in 20 ml Methanol suspendiert und bis zum Ende der Wasserstoffaufnahme hydriert. Nach Abfiltrieren vom Katalysator erhält man 690 mg farblose Kristalle (93% der Theorie).

Schmelzpunkt: 245-250°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 52,58 H 5,21 N 16,72 O 25,47

Gef.: C 52,83 H 5,19 N 16,84

γ) 3-Aza-2-(4-hydroxybenzyl)-pentan-1,5-diamin .Trihydrochlorid

1 g (4,0 mMol) 3-Aza-2-(4-hydroxybenzyl)-4-oxoglutar säurediamid (Beispiel β) werden nach der für Beispiel 1e gegebenen Vorschrift umgesetzt. Das erhaltene farblose Kristallisat wiegt 1,19 g (93,7% der Theorie).

Schmelzpunkt: 238°C

Analyse: Ber.: C 41,45 H 6,95 N 13,18 O 5,02 Cl 33,37

Gef.: C 41,40 H 6,98 N 13,07 Cl 33,33

δ) 3-Aza-2-(4-hydroxybenzyl)-1,3,5-tri-tosylpentan-1,5-diamin

Analog der für 1f angegebenen Vorschrift werden ausgehend von 2,16 g des nach γ) hergestellten Edukts 3,64 g (80% der Theorie) der Titelverbindung erhalten.

Schmelzpunkt: 175-177°C

Analyse: Ber.: C 57,2 H 5,55 N 6,25 O 16,66 S 14,31

Gef.: C 57,13 H 5,61 N 6,20 S 14,15

BEISPIEL 2

a) 2-[4-(3-Benzoyloxycarbonylaminopropoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

9,5 g (13,6 mMol) 2-(4-Hydroxybenzyl)-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (Beispiel 1i) werden mit 261 mg Natriumhydrid (80% in Paraffinöl, 13,6 mMol) in 100 ml Toluol gelöst und langsam bei 30°C mit einer Lösung von 3,84 g (14,9 mMol) N-(3-Brompropyl)-carbaminsäurebenzylester in 20 ml Toluol versetzt. Nach 2 Stunden wird eingeeengt und über eine Kieselgelsäule von Paraffin befreit. Man erhält 11,15 g eines farblosen Öls. (88,5% der Theorie)

Analyse: Ber.: C 64,83 H 8,59 N 7,56 O 19,0

Gef.: C 64,81 H 8,65 N 7,60

b) 2-[4-(3-Aminopropoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

10,52 g (11,36 mMol) 2-[4-(3-Benzoyloxycarbonylaminopropoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan werden in 55 ml Methanol mit 1 g 10% Palladium-Kohle hydriert, bis keine weitere Wasserstoffaufnahme mehr erfolgt. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Einengen bleiben 8,55 g (95% der Theorie) eines farblosen Öls zurück.

Analyse: Ber.: C 63,68 H 9,28 N 8,84 O 18,17

Gef.: C 63,50 H 9,33 N 8,72

c) 2-[4-(3-Aminopropoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Entsprechend Vorschrift 1j gelingt die Abspaltung der tert.-Butylester mit Trifluoressigsäure aus 2-[4-(3-Aminopropoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan in 86% Ausbeute. Schmeltpunkt: 195°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 55,01 H 7,28 N 12,33 O 25,36

Gef.: C 55,20 H 7,31 N 12,33

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd- Komplex

Ber.: C 43,26 H 5,3 N 9,7 O 19,94 Gd 27,78

Gef.: C 43,21 H 5,21 N 9,77 Gd 28,01

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 41,98 H 5,01 N 9,41 O 19,35 Na 3,09 Gd 21,14

Gef.: C 41,97 H 4,87 N 9,34 Na 3,11 Gd 21,01

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 43,22 H 6,04 N 9,16 O 24,42 Gd 17,14

Gef.: C 43,21 H 6,15 N 9,08 Gd 17,25

BEISPIEL 3

- a) 2-[4-3-(Maleimido)-propoxybenzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

7,92 g (10 mmol) 2-[4-(3-Aminopropoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (Beispiel 2b) in 200 ml Dichlormethan werden mit 980 mg (10 mmol) Maleinsäureanhydrid über Nacht bei 40°C gerührt und anschließend bei Raumtemperatur mit 1,35 g (10 mmol) N-Hydroxybenzotriazol und 2,26 g (11 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid versetzt. Nach 2 Tagen filtriert man und reinigt das Produkt durch Chromatographie (Dichlormethan/Ether; Kieselgel). Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute: 6,63 g (73% der Theorie)

Analyse: Ber.: C 63,35 H 8,43 N 8,03 O 20,18

Gef.: C 63,27 H 8,40 N 8,13

- b) 2-[4-3-(Maleimido)-propoxybenzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

6,6 g (7,56 mmol) 2-[4-3-(Maleimido)-propoxybenzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan werden in 50 ml Trifluoressigsäure gelöst und 3 Stunden bei 30°C gerührt. Man gießt in die 10-fache Menge trockenen Diethylether, saugt ab und trocknet im Vakuum. Man erhält 4,33 g (88,5% der Theorie) farbloser Kristalle.

Schmelzpunkt: oberhalb 175°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 55,63 H 6,38 N 10,81 O 27,17

Gef.: C 55,63 H 6,25 N 10,72

Gd-Komplex

8,16 g (12,6 mmol) 2-[4-3-(Maleimido)-propoxybenzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan werden in 100 ml einer 0,1 n Ammoniumacetatlösung gelöst und mit 12,8 ml einer 0,9857 n-Gadoliniumacetatlösung versetzt. Man stellt den pH mit verdünnter Ammoniumacetatlösung auf 7,5, erhitzt 20 Minuten auf 80°C und zentrifugiert. Nach Gefriertrocknung liefert der Überstand 10,0 g (99% der Theorie) farblose Kristalle.

Analyse: Ber.: C 44,93 H 4,77 N 8,73 O 21,97 Gd 19,6
Gef.: C 44,87 H 4,81 N 8,70 Gd 19,68

Natriumsalz des Gd-Komplexes

2,16 g (2,69 mmol) des Komplexes werden in 20 ml Wasser gelöst und mit 2,5 ml einer 1,073 n-Natronlauge versetzt. Nach Gefriertrocknung liegen 1,77 g (99% der Theorie) vor.

Analyse: Ber.: C 43,73 H 4,52 N 8,5 O 21,36 Na 2,79 Gd 19,08
Gef.: C 43,63 H 4,73 N 8,52 Na 2,71 Gd 18,83

N-Methylglucaminsalz des Gd-Komplexes

3,25 g (4,05 mmol) des Komplexes, gelöst in 50 ml Wasser, wird mit 791 mg (4,05 mmol) N-Methylglucamin portionsweise bei 40-45°C versetzt. Nach vollständiger Auflösung der Base wird gefriergetrocknet. Man erhält 4,05 g (quant.) farblose Kristalle.

Analyse: Ber.: C 44,93 H 5,84 N 8,39 O 25,59 Gd 15,72
Gef.: C 44,87 H 5,83 N 8,30 Gd 15,71

BEISPIEL 4

a) 2-[4-(Oxiranylmethoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

12,72 g (18,2 mMol) 2-[4-Hydroxybenzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (Beispiel 1i) werden in 250 ml Toluol gelöst und mit 350 mg Natriumhydrid (80% in Paraffin, 18,3 mMol) versetzt. Man erwärmt auf 80 bis 100°C und versetzt tropfenweise mit einer Lösung von 1,74 g (18,2 mMol) Epichlorhydrin in 50 ml Toluol. Nach zweistündigem Erhitzen auf Rückflußtemperatur wird eingeeengt und über eine Kieselgelsäule gereinigt. Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute: 11,53 g (79,7% der Theorie)

Analyse: Ber.: C 63,44 H 9,38 N 7,04 O 20,12

Gef.: C 63,34 H 9,15 N 7,12

b) 2-[4-(Oxiranylmethoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Wie in Beispiel 1j beschrieben erhält man aus 5,0 g (6,3 mMol) 2-[4-(Oxiranylmethoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan 3,5 g (97% der Theorie) der freien Säure als farblose Kristalle.

Schmelzpunkt: oberhalb 160°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 55,11 H 6,75 N 9,88 O 28,23

Gef.: C 55,17 H 6,76 N 9,72

-37-

Gd-Komplex

Wie für Beispiel 1j beschrieben, erhält man quantitativ den Gd-Komplex.

Analyse: Ber.: C 43,32 H 4,89 N 7,77 O 22,19 Gd 21,81

Gef.: C 43,17 H 4,91 N 7,63 Gd 21,53

Ebenso erhält man das Natriumsalz und das N-Methylglucaminsalz des Komplexes.

Natriumsalz des Gd-Komplexes

Analyse: Ber.: C 42,04 H 4,61 N 7,54 O 21,53 Na 3,09 Gd 21,16

Gef.: C 42,14 H 4,72 N 7,52 Na 3,11 Gd 21,15

N-Methylglucaminsalz des Gd-Komplexes

Analyse: Ber.: C 43,26 H 5,72 N 7,64 O 26,19 Gd 17,16

Gef.: C 43,11 H 5,73 N 7,51 Gd 17,31

BEISPIEL 5

- a) 2-[4-{4-Aza-2-hydroxy-14-(2-tert.-butoxycarbonyl)-hydrazinocarbonyl}-tetradecyloxy]-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

11,7 g (14,7 mmol) der Verbindung nach Beispiel 4a werden in 150 ml Diethylether gelöst und mit 4,63 g (14,8 mmol) 11-Aminoundecansäure-2-(tert.-butoxycarbonyl)-hydrazid in 100 ml Tetrahydrofuran tropfenweise versetzt. Man kocht 2 Stunden am Rückfluß, entfernt das Lösungsmittel durch Destillation und chromatographiert. Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute: 13,4 g (81% der Theorie)

Analyse: Ber.: C 64,24 H 8,92 N 8,59 O 18,23

Gef.: C 65,22 H 8,850001 8,71

- b) 2-[4-{4-Aza-2-hydroxy-14-hydrazinocarbonyl-tetradecyloxy]-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Nach der für Beispiel 1j beschriebenen Vorgehensweise lassen sich die tert.-Butylgruppen mit Trifluoressigsäure abspalten. Aus 2,66 g (2,36 mmol) der Verbindung Beispiel 5a erhält man so 1,59 g (88% der Theorie) der Titelverbindung.

Schmelzpunkt: oberhalb 133°C

Analyse: Ber.: C 56,83 H 8,12 N 12,53 O 22,5

Gef.: C 57,77 H 8,21 N 12,63 O 22,41

Den Gadoliniumkomplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie in Beispiel 1 beschrieben.

Gd-Komplex

Analyse: Ber.: C 47,47 H 6,45 N 10,47 O 18,79 Gd 16,79

Gef.: C 46,71 H 6,47 N 10,53 Gd 16,99

Natriumsalz des Gd-Komplexes

Analyse: Ber.: C 46,38 H 6,2 N 10,23 O 18,36 Na 2,39 Gd 16,41

Gef.: C 46,97 H 6,16 N 10,36 Na 2,42 Gd 16,22

N-Methylglucaminsalz des Gd-Komplexes

Analyse: Ber.: C 47,13 H 6,02 N 9,99 O 22,82 Gd 14,02

Gef.: C 46,39 H 5,93 N 10,07 Gd 14,14

BEISPIEL 6

- a) 2-[4-(2-Propinyloxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

11,4 g (16,3 mmol) 2-(4-Hydroxybenzyl)-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (Beispiel 1i) gelöst in 250 ml Toluol, werden mit 344 mg Natriumhydrid (als 80% Suspension in Paraffin) (17,9 mmol) und anschließend tropfenweise bei Rückflusstemperatur mit einer Lösung von 1,93 (16,5 mmol) 3-Brompropin in 50 ml Toluol versetzt. Nach Chromatographie liegen 9,58 g (76% der Theorie) eines farblosen Öls vor.

Analyse: Ber.: C 65,25 H 8,86 N 7,24 O 18,62

Gef.: C 65,19 H 8,81 N 7,20

- b) 2-[4-(2-Propinyloxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Wie für Beispiel 1j beschrieben, läßt sich durch Behandeln des vorstehend beschriebenen tert.-Butylesters mit Trifluoressigsäure die freie Säure gewinnen. Die Ausbeute beträgt bei einem 10,6 mmolaren Ansatz 88,7%.
Schmelzpunkt: oberhalb 176°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 56,92 H 6,61 N 10,21 O 26,24

Gef.: C 56,90 H 6,70 N 10,14

Den Gadoliniumkomplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie in Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Analyse: Ber.: C 44,43 H 4,73 N 7,97 O 20,46 Gd 22,37

Gef.: C 44,38 H 4,80 N 8,03 Gd 22,33

Natriumsalz des Gd-Komplexes

Analyse: Ber.: C 43,08 H 4,45 N 7,72 O 19,86 Na 3,17 Gd 21,69

Gef.: C 42,93 H 4,41 N 7,66 Na 3,16 Gd 21,64

N-Methylglucaminsalz des Gd-Komplexes

Analyse: Ber.: C 44,13 H 5,61 N 7,79 O 24,94 Gd 17,51

Gef.: C 44,14 H 5,70 N 7,75 Gd 17,26

BEISPIEL 7

- a) 1,6-Bis-{4-[2,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-benzyloxy}-2,4-hexadiin

4,9 g (6,35 mMol) der Verbindung von Beispiel 6a werden in 200 ml Pyridin gelöst und mit 1,26 g (12,7 mMol) Kupfer(II)-chlorid versetzt. Die Lösung wird mit Sauerstoff gesättigt und anschließend rührt man 2 Tage bei Raumtemperatur, wobei ständig eine Sauerstoff-Atmosphäre aufrechterhalten wird. Nach Einengen wird über Kieselgel filtriert und anschließend chromatographiert. Man erhält ein farbloses Öl (2,75g : 56,2% der Theorie).

Analyse: Ber.: C 65,34 H 8,74 N 7,25 O 18,65

Gef.: C 65,38 H 8,71 N 7,30

- b) 1,6-Bis-{4-[2,5,8,11-tetrakis-(carboxymethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-benzyloxy}-2,4-hexadiin

Aus 2,05 g (1,33 mMol) der Titelverbindung a) erhält man nach der für Beispiel 1j beschriebenen Methode 1,34 g (92% der Theorie) des freien Kmplx-bildners als farblose kristalline Substanz.

Schmelzpunkt: oberhalb 141°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 57,02 H 6,44 N 10,23 O 26,29

Gef.: C 57,12 H 6,35 N 10,19

Den Gadoliniumkomplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie in Beispiel 1 beschrieben.

Gd-Komplex

Analyse: Ber.: C 44,49 H 4,59 N 7,98 O 20,51 Gd 22,4

Gef.: C 44,36 H 4,39 N 7,88 Gd 22,15

Natriumsalz des Gd-Komplexes

Analyse: Ber.: C 43,14 H 4,31 N 7,74 O 19,89 Na 3,17 Gd 21,72

Gef.: C 43,15 H 4,36 N 7,70 Na 3,19 Gd 21,70

N-Methylglucaminsalz des Gd-Komplexes

Analyse: Ber.: C 44,18 H 5,5 N 7,8 O 24,97 Gd 17,53

Gef.: C 44,31 H 5,46 N 7,73 Gd 17,75

BEISPIEL 8**a) N-Carbobenzoxyserin-(2-carbobenzoxyaminoethylen)-amid**

7,34 g (30,7 mmol) N-Carbobenzoxyserin werden nach der für Beispiel 1b gegebenen Vorschrift mit den entsprechenden äquimolaren Mengen Chlorameisensäureethylester, Triethylamin und N-(2-Aminoethyl)-carbaminsäurebenzylster-Hydrochlorid umgesetzt und aufgearbeitet. Man erhält 10,33 g (81% der Theorie) farbloses Kristallisat.

Schmelzpunkt: 167°C

Analyse: Ber.: C 60,71 H 6,06 N 10,11 O 23,10

Gef.: C 60,75 H 5,98 N 10,15

b) (2-Aminoethyl)-serinamid

13,46 g (32,4 mmol) N-Carbobenzoxyserin-(2-carbobenzoxyaminoethylen)-amid werden in 200 ml Methanol in Gegenwart von 1,37 g 10% Palladium/Kohle solange hydriert, bis kein Wasserstoff mehr aufgenommen wird. Man filtriert vom Katalysator ab und entfernt alle flüchtigen Anteile an der Ölpumpe. Es hinterbleibt ein zähes, teilweise kristallines Öl.

Ausbeute 4,67 g (98% der Theorie)

Analyse: Ber.: C 40,80 H 8,89 N 28,55 O 21,74

Gef.: C 40,71 H 8,85 N 28,30

c) 1-Hydroxymethyl-1,3,5-triazapentan-Trihydrochlorid

Analog zur Vorschrift für Beispiel 1e erhält man die Titelverbindung in 67% Ausbeute aus dem vorstehend beschriebenen Amid als weißes, kristallines Pulver.

Schmelzpunkt: 236°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 24,75 H 7,47 N 17,32 O 6,59 Cl 43,84

Gef.: C 24,71 H 7,40 N 17,41 Cl 43,75

d) 3-Aza-1-hydroxymethyl-1,3,5-tris-tosyl-pentan-diamin

Analog zur Vorschrift von Beispiel 1f erhält man die Titelverbindung in 73% Ausbeute aus 3-Aza-1-hydroxymethyl-pentan-1,5-diamin.

Schmelzpunkt: 138-140°C

Analyse: Ber.: C 52,41 H 5,58 N 7,05 O 18,79 S 16,14

Gef.: C 50,36 H 5,82 N 7,17 S 16,91

e) 2-Hydroxymethyl-1,4,7,10-tetra-tosyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Analog zur Vorschrift von Beispiel 1g wird die Titelverbindung in 38% Ausbeute aus 3-Aza-1-hydroxymethyl-1,3,5-tris-tosylpentan-1,5-diamin und 3-Aza-1,3,5-tritosyl-1,5-dihydroxy-pentan erhalten. Farblose Kristalle.

Schmelzpunkt: 172°C

Analyse: Ber.: C 54,25 H 5,66 N 6,84 O 17,58 S 15,65

Gef.: C 54,03 H 5,68 N 6,80 S 15,62

f) 2-Hydroxymethyl-1,4,7,10-tetraaza-cyclododecan

Analog zur Vorschrift von Beispiel 1h wird die Titelverbindung in 76% Ausbeute aus 2-Hydroxymethyl-1,4,7,10-tetra-tosyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan erhalten. Man erhält ein feinkristallines Pulver vom Schmelzpunkt 97°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 53,43 H 10,96 N 27,69 O 7,90

Gef.: C 53,63 H 10,81 N 27,37

g) 2-Hydroxymethyl-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Analog zur Vorschrift von Beispiel 1i wird die Titelverbindung in 81% Ausbeute aus 2-Hydroxymethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan und Bromessigsäure-tert.-butylester als farbloses Öl erhalten.

Analyse: Ber.: C 60,15 H 9,48 N 8,50 O 21,85

Gef.: C 60,37 H 9,36 N 8,36

h) 2-Hydroxymethyl-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclodecan

Analog zur Vorschrift von Beispiel 1j wird die Titelverbindung in 78% Ausbeute aus 2-Hydroxymethyl-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan als weißes kristallines Pulver erhalten.
Schmelzpunkt: oberhalb von 170°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 46,99 H 6,96 N 12,89 O 33,14

Gef.: C 46,77 H 6,82 N 12,96

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 34,68 H 4,62 N 9,51 O 24,45 Gd 26,71

Gef.:

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 33,43 H 4,29 N 9,17 O 23,58 Na 3,76 Gd 25,75

Gef.: C 33,41 H 4,13 N 9,25 Na 3,59 Gd 25,60

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 36,77 H 5,65 N 8,93 O 28,57 Gd 20,06

Gef.: C 36,61 H 5,70 N 8,81 Gd 20,17

BEISPIEL 9

- a) 2-[(3-Benzoyloxycarbonylaminopropoxy)-methyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Analog zur Vorschrift von Beispiel 2a wird die Titelverbindung in 82% Ausbeute aus 2-Hydroxymethyl-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (Beispiel 8g) erhalten. Es handelt sich um ein farbloses Öl.

Analyse: Ber.: C 62,16 H 8,89 N 8,23 O 20,7

Gef.: C 62,31 H 8,90 N 8,15

- b) 2-(3-Aminopropoxymethyl)-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Analog zur Vorschrift von Beispiel 2b wird die Titelverbindung in 95% Ausbeute aus der Titelverbindung 9a erhalten. Es handelt sich um ein farbloses Öl.

Analyse: Ber.: C 60,39 H 9,71 N 9,78 O 20,11

Gef.: C 60,34 H 9,66 N 9,90

- c) 2-(3-Aminopropoxy-methyl)-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Analog zur Vorschrift von Beispiel 2c wird die Titelverbindung in 76% Ausbeute aus der Titelverbindung 9b als weißes kristallines Pulver erhalten n. Schmelzpunkt: 149°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 48,87 H 7,58 N 14,24 O 29,29

Gef.: C 48,91 H 7,56 N 14,10

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 37.19 H 5.30 N 10.84 O 22.29 Gd 24.35
Gef.: C 37.18 H 5.52 N 10.81 Gd 24.33

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 38.56 H 6.11 N 9.99 O 26.63 Na 3.44 Gd 18.69
Gef.: C 38.51 H 6.12 N 10.0 Na 3.39 Gd 18.72

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 35.97 H 4.98 N 10.48 O 21.56 Gd 23.54
Gef.: C 35.73 H 4.99 N 10.27 Gd 23.55

BEISPIEL 10

- a) 2-[3-(Maleimido)-propoxymethyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Analog zur Vorschrift von Beispiel 3a wird die Titelverbindung in Ausbeute von 62% aus der Titelverbindung von Beispiel 9b als farbloses Öl erhalten.

Analyse: Ber.: C 60,35 H 8,72 N 8,79 O 22,10

Gef.: C 60,31 H 8,77 N 8,87

- b) 2-[3-(Maleimido)-propoxymethyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Analog zur Vorschrift von Beispiel 3b wird die Titelverbindung in 62% Ausbeute aus der Titelverbindung 10a als farbloses Pulver erhalten.

Schmelzpunkt: 175°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 50,43 H 6,52 N 12,25 O 30,79

Gef.: C 50,44 H 6,70 N 12,33

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 39,71 H 4,72 N 9,64 O 24,24 Gd 21,66

Gef.: C 39,57 H 4,63 N 9,70 Gd 21,50

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 38,54 H 4,44 N 9,35 O 23,53 Na 3,07 Gd 21,02

Gef.: C 38,55 H 4,50 N 9,36 Na 3,07 Gd 20,79

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 40,29 H 5,89 N 9,09 O 27,70 Gd 17,01

Gef.: C 40,33 H 5,71 N 9,18 Gd 17,12

BEISPIEL 11

a) 2-[[Oxiranylmethoxy]-methyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

11.0 g (17,2 mmol) der Titelverbindung von Beispiel 8g werden in 250 ml Toluol gelöst und mit 330 mg Natriumhydrid (80% in Paraffin, 17,2 mmol) versetzt. Man erwärmt auf 80-100°C und versetzt tropfenweise mit einer Lösung von 1,62 g (17,2 mmol) Epichlorhydrin in 50 ml Toluol. Nach zweistündigem Erhitzen auf Rückflußtemperatur wird eingeeengt und über eine Kieselgelsäule gereinigt. Man erhält ein farbloses Öl. Ausbeute: 8,9 g (72% der Theorie)
Analyse: Ber.: C 60,44 H 9,30 N 7,83 O 22,37

Gef.: C 60,14 H 9,89 N 7,52

b) 2-[[Oxiranylmethoxy]-methyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Wie in Beispiel 1j beschrieben erhält man aus 4,34 g (6,1 mmol) der Titelverbindung von 11a 2,60 g (87% der Theorie) der freien Säure als farblose Kristalle.

Schmelzpunkt: oberhalb 177°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 48,97 H 6,98 N 11,42 O 32,61

Gef.: C 48,86 H 6,91 N 11,50

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 37,35 H 4,84 N 8,68 O 24,81 Gd 24,38

Gef.: C 37,21 H 4,72 N 8,69 Gd 24,29

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 36,03 H 4,53 N 8,39 O 23,99 Na 3,44 Gd 23,58

Gef.: C 36,14 H 4,71 N 8,34 Na 3,46 Gd 23,66

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 38,60 H 5,75 N 8,33 O 28,57 Gd 18,72

Gef.: C 38,66 H 5,70 N 8,52 Gd 18,96

BEISPIEL 12

- a) 2-[[4-Aza-2-hydroxy-14-(2-(tert.-butoxycarbonyl)-hydrazinocarbonyl)-tetradecyloxy]-methyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

10.3 g (14.3 mmol) der Titelverbindung von Beispiel 11a werden in 150 ml Diethylether gelöst und mit 4.47 g (14.3 mmol) 11-Amino-undecansäure-2-(tert.-butoxycarbonyl)-hydrazid in 100 ml Tetrahydrofuran tropfenweise versetzt. Man kocht eine Stunde am Rückfluß, entfernt das Lösungsmittel durch Destillation und chromatographiert. Man erhält ein farbloses Öl. Ausbeute 11.56 g (77% der Theorie)

Analyse: Ber.: C 62.06 H 9.18 N 9.21 O 19.54

Gef.: C 62.21 H 9.21 N 9.14

- b) 2-[[4-Aza-2-hydroxy-14-hydrazinocarbonyl-tetradecyloxy]-methyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Nach der für Beispiel 1j beschriebenen Vorgehensweise lassen sich die tert.-Butylgruppen mit Trifluoressigsäure abspalten. Aus 2.5 g (2.36 mmol) der Titelverbindung 12a erhält man so 1.39 g (85% der Theorie) der Titelverbindung. Schmelzpunkt: oberhalb 163°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 52.75 H 8.42 N 13.89 O 24.93

Gef.: C 53.71 H 8.45 N 14.16

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 43,29 H 6,56 N 11,39 O 20,46 Gd 18,28

Gef.: C 43,60 H 6,45 N 11,48 Gd 18,03

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 42,21 H 6,28 N 11,11 O 19,95 Na 2,60 Gd 17,82

Gef.: C 42,59 H 6,37 N 11,06 Na 2,65 Gd 17,93

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 43,66 H 6,07 N 10,72 O 24,49 Gd 15,04

Gef.: C 43,83 H 6,13 N 10,52 Gd 15,23

BEISPIEL 13

a) 2-[(2-Propinyloxy)-methyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

10,4 g (16,3 mmol) der Titelverbindung von Beispiel 8g, gelöst in 250 ml Toluol, werden mit 540 mg Natriumhydrid (als 80% Suspension in Paraffin (18 mmol) und anschließend tropfenweise bei Rückflußtemperatur mit einer Lösung von 2,01 g (16,9 mmol) 3-Brompropin in 50 ml Toluol versetzt. Nach Chromatographie liegen 9,86 g (87% der Theorie) eines farblosen Öls vor.

Analyse: Ber.: C 71,77 H 6,88 N 5,97 O 15,36

Gef.: C 72,89 H 6,92 N 6,03

b) 2-[(2-Propinyloxy)-methyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Wie für Beispiel 1j beschrieben, läßt sich durch Behandeln des vorstehend beschriebenen tert.-Butylesters mit Trifluoressigsäure die freie Säure gewinnen. Die Ausbeute betrug bei einem 10 mmolaren Ansatz 80%.

Schmelzpunkt: oberhalb 176°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 50,84 H 6,82 N 11,85 O 30,47

Gef.: C 51,18 H 6,74 N 11,97

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 38,32 H 4,66 N 8,93 O 22,97 Gd 25,09

Gef.: C 37,67 H 4,63 N 8,90 Gd 25,52

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 37,03 H 4,35 N 8,63 O 22,19 Na 3,54 Gd 24,24

Gef.: C 37,65 H 4,33 N 8,46 Na 3,47 Gd 23,93

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 39,45 H 5,64 N 8,52 O 27,25 Gd 19,13

Gef.: C 39,89 H 5,62 N 8,60 Gd 19,13

BEISPIEL 14

- a) 1,6-Bis-{[2,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-methoxy}-2,4-hexadiin

4,38 g (6,3 mmol) der Titelverbindung von Beispiel 13a werden in 200 ml Pyridin gelöst und mit 1,25 g (12,6 mmol) Kupfer(I)-Chlorid versetzt. Die Lösung wird mit Sauerstoff gesättigt und anschließend rührt man 2 Tage bei Raumtemperatur, wobei ständig eine Sauerstoffatmosphäre aufrecht erhalten wird. Nach Einengen wird über Kieselgel filtriert und anschließend chromatographiert. Man erhält ein farbloses Öl (2,62 g = 61% der Theorie).

Analyse: Ber.: C 62,13 H 9,12 N 8,05 O 20,69

Gef.: C 63,24 H 9,02 N 7,98

- b) 1,6-Bis-{[2,5,8,11-tetrakis-(carboxymethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-methoxy}-2,4-hexadiin

Aus 3,3 g (2,37 mmol) der Titelverbindung von Beispiel 14a erhält man nach der für Beispiel 1j beschriebenen Methode 1,65 g (74% der Theorie) des freien Komplexbildners als farblose, kristalline Substanz.

Schmeltpunkt: oberhalb 140°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 50,94 H 6,62 N 11,88 O 30,54

Gef.: C 50,40 H 6,56 N 12,03

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 38,39 H 4,51 N 8,95 O 23,01 Gd 25,13

Gef.: C 38,11 H 4,52 N 9,01 Gd 24,81

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 37,08 H 4,20 N 8,65 O 22,23 Na 3,54 Gd 24,27

Gef.: C 37,25 H 4,22 N 8,54 Na 3,50 Gd 24,64

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 39,50 H 5,52 N 8,53 O 27,28 Gd 19,15

Gef.: C 39,33 H 5,44 N 8,43 Gd 19,33

BEISPIEL 15

Konjugat des 2-[3-(Maleimido)-propoxymethyl]-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans mit Fab-Fragmenten des monoklonalen Antikörpers 7B10D11

a) Herstellung von F(ab')₂-Fragmenten:

16 mg (100 nMol) des Antikörpers 7B10D11 werden in 1 ml eines Gemisches von 0,1 M-Acetatpuffer (pH 4,5) und 0,1 M Kochsalzlösung gelöst und nach Zugabe von 0,3 mg Pepsin 20 Stunden bei 37°C inkubiert. Nach Reinigung über Ultrageel ACA (Firma LKB) bei pH 7,0 und nach Gefriertrocknung erhält man 6,3 mg (63% der Theorie) der gewünschten Fragmente.

b) Herstellung und Kopplung von Fab-Fragmenten:

15 mg (150 nMol) der nach a) erhaltenen Fragmente werden in 14,5 ml 0,1 M-Phosphatpuffer (pH 6,0) gelöst und mit 0,15 ml einer 0,1 M-Mercaptoethylaminlösung in 0,1 M-Phosphatpuffer (pH 6,0) unter Zusatz von 15 mMol Ethylen-diamintetraessigsäure gelöst. Nach zweistündigem Inkubieren bei 37°C trennt man unter Argonschutz über eine Sephadex 6 25-Säule ab. Eine Bestimmung der Sulfhydrylgruppen ergibt 238 nMol SH-Gruppen im Reaktionsansatz.

1,23 mg (2,15 µMol) des in Beispiel 10b beschriebenen Komplexbildners werden in 10 ml 0,1 M-Phosphatpuffer (pH 6,0) gelöst. Hierzu fügt man bei 4°C die oben hergestellte Lösung des Fab-Fragments und läßt über Nacht unter leichtem Schütteln (bei maximal 4°C) reagieren. Danach eluiert man über einen Kationenaustauscher, dialysiert gegen 0,1 M-Ammoniumacetatlösung und lyophilisiert. Man erhält 14,1 mg eines weißen Pulvers.

1 ml ¹¹¹InCl₃-Lösung (pH 5,5, 83 mCi/ml) werden zu einer Lösung des Konjugats in 25 ml Puffer (20 mMol Natriumacetat, 150 mMol Natriumchlorid) gegeben und 4 Stunden inkubiert. Danach fügt man nochmal 5 ml 0,1 M-Natriumacetatlösung zu, dialysiert und lyophilisiert. Man erhält 13,82 mg weißes Pulver mit einer spezifischen Aktivität von 5 mCi/mg.

BEISPIEL 16

¹¹¹Indium-Komplex vom Konjugat des monoklonalen Antikörpers 7B10D11 mit 2-[4-(4-Aza-2-hydroxy-14-hydrazinocarbonyl-tetradecyloxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

30 nMol des Antikörpers werden an einem makroporösen, stark sauren Kationenaustauscher gebunden, der zuvor mit einem 0,1 m-Natriumacetatpuffer (pH 5) äquilibriert wurde und sich in einer durch Aluminiumfolie vor Lichteinfall geschützten Säule befindet. Dann spült man mit 0,03 m Natriumperjodat in Acetatpuffer, bis das Perjodat im Eluat auftaucht. Man unterbricht das Spülen für 30 Minuten, wäscht dann mit Acetatpuffer und zieht dann eine Lösung, die 0,03 m an dem obigen Hydrazid (Beispiel 5) und 0,1 m an Natriumcyanoborhydrid ist, auf. Nach 2 Stunden eluiert man nicht gekoppelten Komplexbildner mit Acetatpuffer; das Konjugat wird mit einem Kochsalzgradienten eluiert. Nach Entsalzen wird gefriergetrocknet. Man erhält 4,5 mg Konjugat, das wie in Beispiel 15 beschrieben, in den ¹¹¹Indium-Komplex überführt wird.

BEISPIEL 17

a) 3-(4-Hydroxybenzyl)-2,4-dioxo-1,5,8,11-tetraazacyclotridecan

27,6 g (0,1 Mol) 4-Hydroxybenzylmalonsäurediethylester (Am. Pharm. Fr. 38(4), 343-52) werden mit 14,6 g (0,1 Mol) Triethylentetraamin in 1200 ml Ethanol 5 Tage zum Rückfluß erhitzt. Man engt im Vakuum zur Trockne ein und kristallisiert den Rückstand mehrfach aus Toluol. Man erhält 7 g (22% der Theorie) eines weißen Pulvers.

Analyse: Ber.: C 60,17 H 7,26 N 17,54

Gef.: C 60,06 H 7,50 N 17,38

b) 3-(4-Hydroxybenzyl)-1,5,8,11-tetraazacyclotridecan-tetrahydrochlorid

32 g (0,1 Mol) der unter a) erhaltenen Verbindung werden in 350 ml Tetrahydrofuran 5 Stunden mit 1 Mol Diboran zum Rückfluß erhitzt. Dann tropft man unter Kühlung 500 ml Methanol zu, sättigt die Lösung mit Chlorwasserstoff und erhitzt 30 Minuten zum Rückfluß. Man engt zur Trockne ein und kristallisiert den Rückstand aus Ethanol um. Man erhält 26,3 g (60% der Theorie) eines weißen Pulvers.

Analyse: Ber.: C 43,85 H 7,36 N 12,78 Cl 32,36

Gef.: C 43,67 H 7,66 N 12,53 Cl 32,10

c) 3-(4-Hydroxybenzyl)-1,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,5,8,11-tetraazacyclotridecan

21,9 g (50 mmol) der unter b) erhaltenen Verbindung und 55,0 g (550 mmol) Kaliumhydrogenkarbonat werden in 350 ml Dimethylformamid (getrocknet über Natriumhydrid) vorgelegt und bei 35°C tropfenweise mit einer Lösung von 38,4 g (200 mmol) Bromessigsäure-tert.-butylester in 75 ml Dimethylformamid versetzt. Nach dreistündigem Rühren bei 35 °C wird abgesaugt und das Filtrat im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird in Diethylether gelöst und unumgesetzter Bromessigsäure-tert.-butylester über eine Kieselgelsäule abgetrennt. Nach Einengen der Etherlösung erhält man 32,5 g (87% der Theorie) eines farblosen Öls.

Analyse: Ber.: C 64,14 H 9,15 N 7,48 O 19,22

Gef.: C 64,22 H 9,32 N 7,29

d) 3-[4-Hydroxybenzyl]-1,5,8,11-tetrakis-(carboxymethyl)-1,5,8,11-tetraazacyclotridecan

Wie für Beispiel 1j beschrieben, erhält man den freien Liganden aus dem vorstehend beschriebenen Tetraester in 88% Ausbeute.

Schmelzpunkt: oberhalb 155°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 54,95 H 6,91 N 10,68 O 27,44

Gef.: C 55,61 H 6,85 N 10,59

-61-

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 42,46 H 4,90 N 8,25 O 21,21 Gd 23,16

Gef.: C 42,90 H 4,81 N 8,37 Gd 22,72

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 39,88 H 4,32 N 7,75 O 19,92 Na 6,36 Gd 21,75

Gef.: C 40,15 H 4,26 N 7,82 Na 6,43 Gd 22,14

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 42,68 H 6,31 N 7,85 O 28,43 Gd 14,70

Gef.: C 42,99 H 6,39 N 7,76 Gd 14,94

BEISPIEL 18

- a) 3-[4-(3-Benzoyloxycarbonylaminopropoxy)-benzyl]-1,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,5,8,11-tetraazacyclotridecan

7,49 g (10 mmol) der unter 17c) erhaltenen Verbindung werden mit 500 mg Natriumhydrid in 80 ml Tetrahydrofuran tropfenweise mit einer Lösung von 3,3 g N-(3-Brompropyl)-carbaminsäurebenzylester in 10 ml Tetrahydrofuran versetzt. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur wird eingeeengt, der Rückstand in 100 ml Diethylether aufgenommen und die Lösung über Aktivkohle filtriert. Nach Chromatographie über eine Kieselssäule (System Essigester/Diethylether = 2:1) erhält man nach Einengen im Vakuum 3,8 g (40% der Theorie) eines farblosen Öls.

Analyse: Ber.: C 65,07 H 8,78 N 7,44 O 18,70

C 65,15 H 8,91 N 7,25

- b) 3-[4-(3-Aminoipropoxy)-benzyl]-1,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,5,8,11-tetraazacyclotridecan

5,6 g der unter a) erhaltenen Verbindung werden in Ethanol mit 0,5 g 10% Palladiumkohle hydriert, bis keine Wasserstoffaufnahme mehr festzustellen ist. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Abdampfen des Lösungsmittels liegt die Substanz analysenrein in quantitativer Ausbeute als farbloses Öl vor.

Analyse: Ber.: C 64,07 H 9,37 N 8,68 O 17,86

Gef.: C 64,35 H 9,40 N 8,72

-63-

c) 3-[4-(3-Aminopropoxy)-benzyl]-1,5,8,11-tetrakis-(carboxymethyl)-1,5,8,11-tetraazacyclotridecan

Wie für Beispiel 1j beschrieben, erhält man die Titelverbindung aus (7,3 mmol) 3-[4-(3-Aminopropoxy)-benzyl]-1,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxy-carbonylmethyl)-1,5,8,11-tetraazacyclotridecan in 73% Ausbeute als weißes Pulver.

Schmelzpunkt: 192°C

Analyse: Ber.: C 54,95 H 6,91 N 10,68 O 27,44

Gef.: C 54,06 H 6,84 N 10,7

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 42,46 H 4,90 N 8,25 O 21,21 Gd 23,16

Gef.: C 42,94 H 4,88 N 8,33 Gd 23,17

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 39,88 H 4,32 N 7,75 O 19,92 Na 6,36 Gd 21,75

Gef.: C 39,85 H 4,32 N 7,61 Na 6,25 Gd 21,98

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 42,68 H 6,31 N 7,85 O 28,43 Gd 14,70

Gef.: C 43,47 H 6,21 N 7,83 Gd 14,52

BEISPIEL 19

a) 3-[4-(3-Maleimido-propoxy)-benzyl]-1,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,5,8,11-tetraazacyclotridecan

Analog zu Beispiel 3a) erhält man aus der unter 18a) dargestellten Verbindung in 72% Ausbeute die Titelverbindung als farbloses Öl.

Analyse: Ber.: C 63,70 H 8,53 N 7,90 O 19,86

Gef.: C 64,00 H 8,37 N 7,93

b) 3-[4-(3-Maleimidopropoxy)-benzyl]-1,5,8,11-tetrakis-(carboxymethyl)-1,5,8,11-tetraazacyclotridecan

Nach der für Beispiel 3b) gegebenen Vorschrift erhält man aus dem unter a) hergestellten Tetraester in 80% Ausbeute den Komplexbildner als weißes Pulver.

Schmelzpunkt: oberhalb 110°C (Zersetzung)

Analyse: Ber.: C 56,26 H 6,54 N 10,58 O 26,59

Gef.: C 56,31 H 6,50 N 10,37

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 45,63 H 4,94 N 8,58 O 21,56 Gd 19,27

Gef.: C 45,66 H 4,84 N 8,72 Gd 19,51

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 44,43 H 4,69 N 8,35 O 21,00 Na 2,74 Gd 18,76

Gef.: C 44,56 H 4,64 N 8,24 Na 2,78 Gd 18,72

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 45,00 H 5,96 N 8,28 O 25,24 Gd 15,50

Gef.: C 45,41 H 5,84 N 8,43 Gd 15,30

BEISPIEL 20

a) 1,6-Bis-{4-[2,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-benzyloxy}-hexan

3,33 g (2,16 mmol) der Verbindung nach Beispiel 7a) werden in Methanol mit 500 mg 5% Platin/Kohlenstoff bis zur Wasserstoffsättigung hydriert. Es werden 205 ml Wasserstoff aufgenommen. Nach Abfiltrieren des Katalysators liegt die Substanz analysenrein vor. Nach Abziehen des Lösungsmittels bleiben 3,19 g (95% der Theorie) eines farblosen Öls zurück.

Analyse: Ber.: C 65,00 H 9,22 N 7,21 O 18,55

Gef.: C 64,79 H 9,23 N 7,16

b) 1,6-Bis-{4-[2,5,8,11-tetrakis-(carboxymethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-benzyloxy}-hexan

Analog zur Vorschrift Beispiel 7b wird die Titelverbindung in 91% Ausbeute aus der Verbindung a) als farblose Kristalle erhalten.

Schmelzpunkt: 162-165°C

Analyse: Ber.: C 56,61 H 7,12 N 10,15 O 26,10

Gef.: C 56,57 H 7,03 N 10,21

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 44,24 H 5,14 N 7,93 O 20,4 Gd 22,27

Gef.: C 44,35 H 5,17 N 7,90 Gd 22,26

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 42,90 H 4,84 N 7,69 O 19,78 Na 3,15 Gd 21,6

Gef.: C 42,81 H 4,80 N 7,77 Na 3,11 Gd 21,80

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 43,98 H 5,92 N 7,77 O 24,85 Gd 17,45

Gef.: C 43,97 H 5,78 N 7,39 Gd 17,30

ERSATZBLATT

BEISPIEL 21

- a) 1,6-Bis-{-[2,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-methoxy}-hexan

4,1 g (2,95 mmol) der Verbindung nach Beispiel 14a werden in Methanol mit 500 mg 5% Platin/Kohlenstoff bis zur Wasserstoffsättigung hydriert. Es werden 268 ml Wasserstoff aufgenommen. Nach Abfiltrieren des Katalysators liegt die Substanz analysenrein vor. Nach Abziehen des Lösungsmittels bleiben 3,88 g (94% der Theorie) eines farblosen Öls zurück.

Analyse: Ber.: C 61,77 H 9,64 N 8,00 O 20,57

Gef.: C 62,14 H 9,57 N 8,04

- b) 1,6-Bis-{-[2,5,8,11-tetrakis-(carboxymethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-methoxy}-hexan

Analog zur Vorschrift wurde die Titelverbindung in 76% Ausbeute aus der Verbindung a) als farblose Kristalle erhalten.

Schmelzpunkt: 110-112°C

Analyse: Ber.: C 50,51 H 7,41 N 11,78 O 30,28

Gef.: C 50,26 H 7,34 N 11,58

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 38,14 H 5,12 N 8,89 O 22,86 Gd 24,97

Gef.: C 38,78 H 5,10 N 8,72 Gd 24,49

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 36,85 H 4,79 N 8,59 O 22,09 Na 3,52 Gd 24,12

Gef.: C 37,38 H 4,86 N 8,57 Na 3,52 Gd 23,76

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 39,31 H 5,98 N 8,48 O 27,15 Gd 19,06

Gef.: C 38,84 H 5,98 N 8,50 Gd 18,71

BEISPIEL 22

- a) 1,2-Bis-{4-[2,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-benzyloxy}-ethan

15,0 g (21,46 mMol) der Verbindung von Beispiel 1i werden in 200 ml Aceton mit 2,31 g (10,7 mMol) Dibromethan, 1,52 g (11,0 mMol) Kaliumcarbonat und 0,2 g Kaliumjodid 10 Stunden am Rückfluß gehalten, danach eingeengt und mit Essigester/Kochsalzlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase und Chromatographie an Kieselgel (Ether/Hexan) liegen 12,36 g analysenreines Produkt als farbloses Öl vor. (77% der Theorie)

Analyse: Ber.: C 64,23 H 9,02 N 7,49 O 19,25

Gef.: C 63,56 H 8,94 N 7,53

- b) 1,2-Bis-{4-[2,5,8,11-tetrakis-(carboxymethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-benzyloxy}-ethan

7,76 g (5,19 mMol) der Verbindung nach a) werden, wie in Beispiel 1j beschrieben, umgesetzt und aufgearbeitet. Man erhält 4,50 g eines weißen kristallinen Materials (83% der Theorie).

Analyse: Ber.: C 55,05 H 6,73 N 10,70 O 27,5

Gef.: C 55,30 H 6,77 N 10,57

ERSATZBLATT

Den Gadolinium-Komplex sowie dessen Salze erhält man quantitativ wie für Beispiel 1j beschrieben.

Gd-Komplex

Ber.: C 42,53 H 4,75 N 8,26 O 21,24 Gd 23,20

Gef.: C 42,34 H 4,68 N 8,31 Gd 23,41

Na-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 41,19 H 4,46 N 8,00 O 20,57 Na 3,28 Gd 22,47

Gef.: C 41,43 H 4,44 N 8,06 Na 3,34 Gd 22,09

N-Methylglucamin-Salz des Gd-Komplexes

Ber.: C 42,65 H 5,65 N 8,02 O 25,65 Gd 18,01

Gef.: C 41,91 H 5,58 N 8,14 Gd 18,15

BEISPIEL 23

- a) 1,12-Bis-[[2,5,8,11-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-methoxy]-4,9-diaza-5,8-dioxo-dodeca-methylen

12,35 g (17,25 mmol) der Verbindung nach Beispiel 9b werden in 200 ml Toluol gelöst und mit der äquimolaren Menge Triethylamin versetzt. Bei 0°C tropft man dann eine Lösung von 1,33 g (8,6 mmol) Bernsteinsäuredichlorid zu, wobei auf gute Kühlung und effektives Rühren zu achten ist. Eine halbe Stunde nach Beendigung der Zugabe kocht man kurz auf, kühlt und saugt von ausgefallenem Triethylamin-Hydrochlorid ab. Man wäscht mehrmals mit Wasser, trocknet, engt ein und chromatographiert mit Ether/Hexan. Man erhält ein farbloses Öl in einer Gesamtmenge von 11,23 g (86% der Theorie).

Analyse: Ber.: C 60,29 H 9,32 N 9,25 O 21,13

Gef.: C 60,11 H 9,28 N 9,24

- b) 1,12-Bis-[[2,5,8,11-tetrakis-(carboxymethyl)-2,5,8,11-tetraazacyclododecyl]-methoxy]-4,9-diaza-5,8-dioxo-dodecamethylen

Wie für Beispiel 1j beschrieben, erhält man in 80%iger Ausbeute den freien Komplexbildner.

Analyse: Ber.: C 49,61 H 7,19 N 13,15 O 30,04

Gef.: C 49,38 H 7,26 N 13,35

Der Gadolinium-Komplex und dessen Salze werden wie in Beispiel 1j beschrieben, erhalten.

Gadolinium-Komplex

Ber.: C 38,47 H 5,13 N 10,19 O 23,29 Gd 22,89

Gef.: C 38,56 H 5,06 N 10,37 Gd 22,88

Natriumsalz des Gd-Komplexes

Ber.: C 37,28 H 4,83 N 9,88 O 22,57 Na 3,24 Gd 22,18

Gef.: C 37,35 H 4,92 N 9,85 Na 3,23 Gd 22,32

N-Methylglucaminsalz des Gd-Komplexes

Ber.: C 39,49 H 5,94 N 9,52 O 27,2 Gd 17,82

Gef.: C 39,89 H 6,03 N 9,40 Gd 17,60

BEISPIEL 24

Lösung des Natriumsalzes vom Indium-111-Komplex des 2-Hydroxymethyl-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

Eine Lösung von 100 µg der in Beispiel 8h beschriebenen Verbindung in 5 ml eines Gemisches aus einer 150 mmolaren Kochsalz- und einer 150 mmolaren Natriumacetatlösung (pH 5,8) wird mit einer Lösung von 5 mCi Indium-111-Chlorid mit 1 ml n-Salzsäure versetzt. Man bringt durch Zugabe von 1 n-Natronlauge auf pH 6 und dialysiert gegen Natriumacetatlösung, darauf gegen Kochsalzlösung. Dann bringt man durch Zugabe von 0,1 n-Natronlauge auf pH 7,2 und füllt die sterile filtrierte Lösung in Multivials.

In analoger Weise erhält man aus 5 mg des Komplexbildners und einer sterilen, pyrogenfreien Lösung von 500 mCi Yttrium-90-chlorid ein für die Radiotherapie geeignetes Präparat.

BEISPIEL 25

a) 2-[4-(3-[5-(2-Oxo-2,3,3a,4,6,6a-hexahydro-1H-thieno[3,4-d]-imidazol-4-yl)-valerylaminol]-propoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis-(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

341,4 mg (1 mmol) N-Hydroxysuccinimidobiotin (Pierce Chem. Comp.), werden mit 792,1 mg (1 mmol) 2-[4-(3-Aminopropoxy)-benzyl]-1,4,7,10-tetrakis(tert.-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (Beispiel 2b) in 10 ml DMF versetzt und über Nacht gerührt. Anschließend wird die Reaktionslösung eingedampft und an Kieselgel chromatographiert (Toluol/Eisessig/Ethylacetat/Methanol = 6:4:4:3). Die dünnschichtchromatographisch reinen Fraktionen werden vereinigt, die Lösung im Vakuum eingedampft und über KOH getrocknet. Ausbeute: 723 mg (71% der Theorie)

Analyse: Ber.: C 61,33 H 8,61 N 9,63 O 17,28 S 3,15
Gef.: C 61,47 H 8,56 N 9,72 S 3,41

-72-

b) 2-{4-(3-[5-(2-oxo-2,3,3a,4,6,6a-hexahydro-1H-thieno[3,4-d]-imidazol-4-yl)valeryl amino]-propoxy)-benzyl}-1,4,7,10-tetrakis-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

509.2 mg (0.5 mmol) der Verbindung 25a werden mit 3 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 Minuten gerührt. Anschließend wird mit trockenem Diethylether gefällt, der Niederschlag mit Diethylether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 357 mg (90% der Theorie)

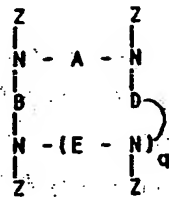
Analyse: Ber.: C 54.46 H 6.98 N 12.35 O 22.17 S 4.04
Gef.: C 54.59 H 7.04 N 12.30 S 3.91

Der Gadolinium-Komplex wird nach der unter Beispiel 1j beschriebenen Vorgehensweise hergestellt.

Analyse: Ber.: C 45.60 H 5.53 N 10.34 O 16.56 S 3.38 Gd 16.58
Gef.: C 45.49 H 5.51 N 10.41 S 3.49 Gd 16.39

PATENTANSPRÜCHE

1. Verbindungen der allgemeinen Formel I



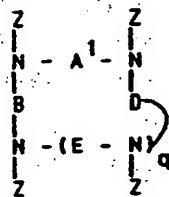
worin

q für die Ziffern 0, 1, 2 oder 3.

A für die Gruppe $(\text{CH}_2)_m - \overset{\text{R}^1}{\text{CH}} - (\text{CH}_2)_1$,
 wobei m die Ziffern 1, 2, 3, 4 oder 5.

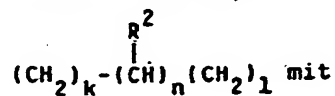
1 die Ziffern 0, 1, 2, 3, 4 oder 5.

R¹ eine gegebenenfalls Imino-, Phenylenoxy-, Phenylenimino-, Amido-, Hydrazido-, Estergruppe(n), Sauerstoff-, Schwefel- und/oder Stickstoff-Atom(e) enthaltende gegebenenfalls durch Hydroxy-, Mercapto-, Imino-, Epoxy-, Oxo-, Thioxo- und/oder Aminogruppe(n) substituierte geradkettige, v r-zweigte, gesättigte oder ungesättigte C₀-C₂₀-Alkylengruppe, die am Ende entweder einen Ring der allgemeinen Formel II



worin A¹ für die Gruppe $(\text{CH}_2)_m - \overset{\text{R}^2}{\text{CH}} - (\text{CH}_2)_1$ steht,
 eine funktionelle Gruppe oder gebunden über diese funktionelle Gruppe ein Bio- oder Makromolekül aufweist,
 bedeuten,

B, D und E, die gleich oder verschieden sind, jeweils für die Grupp



R^2 in der Bedeutung von Wasserstoff oder R^1 .

k in der Bedeutung der Ziffern 0, 1, 2, 3, 4 oder 5.

n in der Bedeutung der Ziffern 0 oder 1.

Z für Wasserstoff oder CH_2X stehen, worin

X für die Reste $-COOY$ oder $-PO_3HY$ mit Y in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms und/oder eines Metallionenäquivalents eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44 oder 57-83 bedeuten,

mit der Maßgabe, daß B, E und D jeweils mindestens 2 und maximal 5 Kohlenstoffatom(e) enthält und daß mindestens zwei Z für CH_2X stehen,

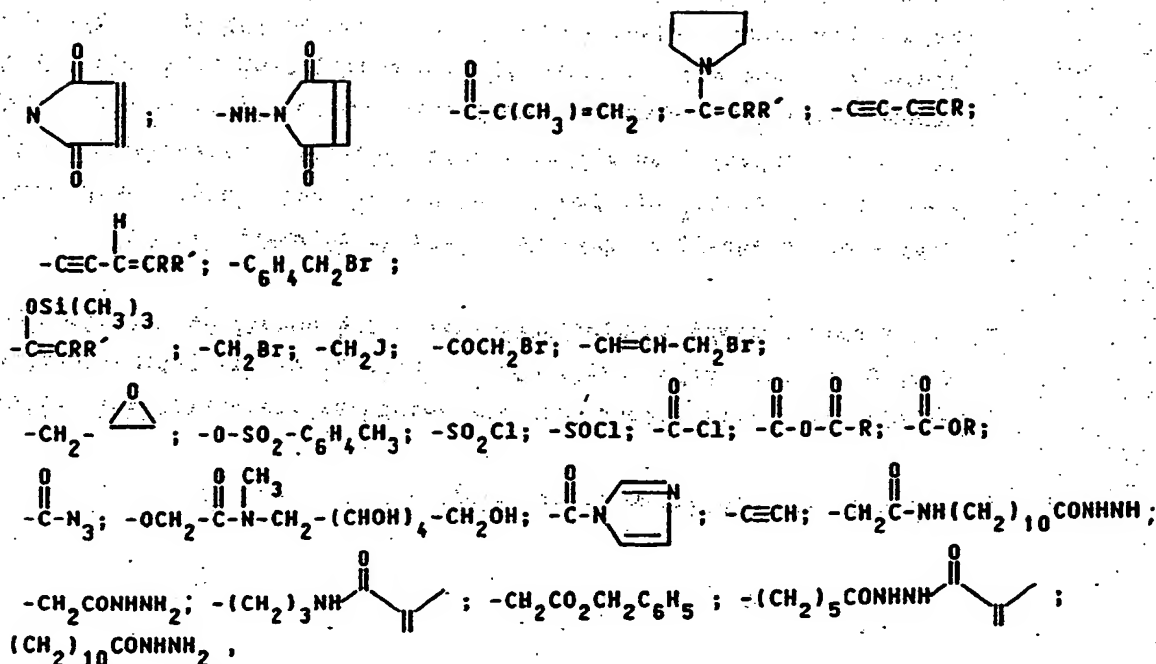
sowie deren Salze mit anorganischen und/oder organischen Basen oder Aminosäuren.

2. Verbindungen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Y Wasserstoffatome darstellt.

3. Verbindungen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens 2 der Substituenten Y Metallionenäquivalente mindestens eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 42, 44 oder 57-83 oder mindestens eines Radionuklids eines Elements der Ordnungszahlen 27, 29, 31, 32, 38, 39, 43, 49, 62, 64, 70 oder 77 sind.

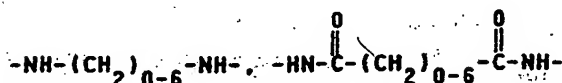
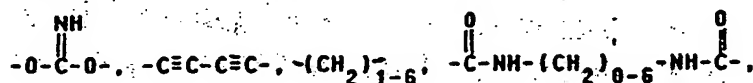
4. Verbindungen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R^1 für eine gegebenenfalls Imino-, Phenylenoxy-, Phenylenimino-, Amido-, Hydrazino-, Estergruppe(n), Sauerstoff-, Schwefel und/oder Stickstoff-Atom(e) enthaltende, gegebenenfalls durch Hydroxy-, Mercapto-, Imino-, Epoxy-, Oxo-, Thio- und/oder Aminogruppe(n) substituierte geradkettige, verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C_0-C_{20} -Alkylengruppe, die am Ende als funktionell Gruppe $-NH_2$; $-NHR$; $-NHNH_2$, $-NRNH_2$, $-SH$, $-OH$, $COCH_3$,

-75-



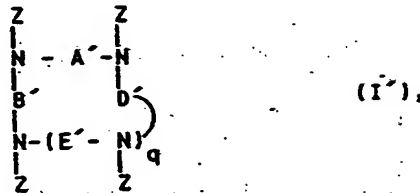
wobei R und R' gleich oder verschieden sind und jeweils ein Wasserstoffatom, einen gesättigten oder ungesättigten gegebenenfalls durch eine Phenylgruppe substituierten C₁-C₂₀-Alkylrest oder eine Phenylgruppe bedeuten, aufw ist, steht.

5. Verbindungen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R¹ für einen über eine



Gruppe verbundenen Ring der allgemeinen Formel II steht.

6. Verbindungen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R^1 für eine gegebenenfalls Imino-, Phenylenoxy-, Phenylenimino-, Amido-, Hydrazido-, Estergruppe(n), Sauerstoff-, Schwefel- und/oder Stickstoffatom(e) enthaltende gegebenenfalls durch Hydroxy-, Mercapto-, Imino-, Epoxy-, Oxo-, Thio- und/oder Aminogruppe(n) substituierte geradkettige, verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C_0-C_{20} -Alkylengruppe, die am Ende ein über eine funktionelle Gruppe gebundenes Bio- oder Makromolekül aufweist, steht.
7. Verbindungen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das in R^1 enthaltene Bio- oder Makromolekül ein Antikörper, ein Antikörper-Fragment, ein Avidin-Biotin-Antikörper oder ein Avidin-Biotin-Antikörper-Fragment ist.
8. Verbindungen der allgemeinen Formel I'



worin

A' für die Gruppe $(CH_2)_m - CH - (CH_2)_l$,
 B' , D' und E' , die gleich oder verschieden sind, jeweils für die Gruppe

$(CH_2)_k (CH)_n (CH_2)_i$ stehen,

n, m, k, l, q, Z und X die in Anspruch 1 genannte Bedeutung haben,

R^1 die gleiche Bedeutung wie R^1 hat, mit der Ausnahme, daß kein Bi- oder Makromolekül an die funktionelle Gruppe am Ende der C_0-C_{20} -Alkylengruppe gebunden sein soll,

R^2 für Wasserstoff oder R^1 steht,

mit der Maßgabe, daß B' , D' und E' jeweils mindestens 1 und maximal 5 Kohlenstoffatom(e) enthält und daß mindestens zwei der Substituenten Y Metallionenäquivalente mindestens eines Elements der in Anspruch 1 genannten Ordnungszahlen sind,

sowie deren Salze mit anorganisch n und/der organischen Basen oder Aminosäuren.

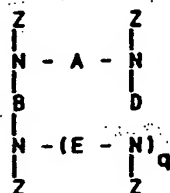
-77-

9. Pharmazeutische Mittel enthaltend mindestens eine physiologisch v rträgliche Verbindung nach Anspruch 1 bis 8, gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen Zusätzen.

10. Verwendung von mindestens einer physiologisch verträglichen Verbindung gemäß Anspruch 3 für die Herstellung von Mitteln für die NMR-, Röntgen-, Radi - Diagnostik oder Radio-Therapie.

11. Verwendung von mindestens einer physiologisch verträglichen Verbindung d r allgemeinen Formel I' gemäß Anspruch 8 als Hapten für die Herstellung von Antikörpern.

12. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I



(I),

worin

q für die Ziffern 0, 1, 2 oder 3,

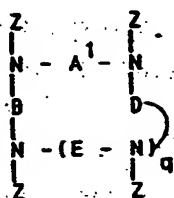
A für die Gruppe $(\text{CH}_2)_m - \overset{\text{R}^1}{\underset{|}{\text{CH}}} - (\text{CH}_2)_1$.

wobei m die Ziffern 1, 2, 3, 4 oder 5,

1 die Ziffern 0, 1, 2, 3, 4 oder 5,

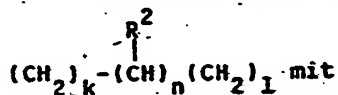
-78-

R^1 eine gegebenenfalls Imino-, Phenylenoxy-, Phenylenimino-, Amido-, Hydrazido-, Estergruppe(n), Sauerstoff-, Schwefel- und/oder Stickstoff-Atom(e) enthaltende gegebenenfalls durch Hydroxy-, Mercapto-, Imino-, Epoxy-, Oxo-, Thioxo- und/oder Aminogruppe(n) substituierte geradkettige, verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C_0-C_{20} -Alkylengruppe, die am Ende entweder in einen Ring der allgemeinen Formel II



worin A^1 für die Gruppe $(CH_2)_m-CH-(CH_2)_1$ steht, eine funktionelle Gruppe oder gebunden über diese funktionelle Gruppe ein Bio- oder Makromolekül aufweist, bedeuten,

B, D und E die gleich oder verschieden sind, jeweils für die Gruppe



R^2 in der Bedeutung von Wasserstoff oder R^1 ,

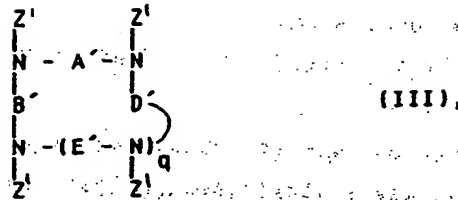
k in der Bedeutung der Ziffern 0, 1, 2, 3, 4 oder 5,

Z für Wasserstoff oder CH_2X stehen, worin

X die Reste $-COOY$ oder $-PO_3HY$ mit Y in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms und/oder eines Metallionenäquivalents eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 38, 39, 42-44 oder 57-83 bedeuten,

mit der Maßgabe, daß B, D und E jeweils mindestens ein und maximal 5 Kohlenstoffatom(e) enthält und daß mindestens zwei Z für CH_2X stehen, sowie deren Salze mit anorganischen und/oder organischen Basen oder Aminosäuren,

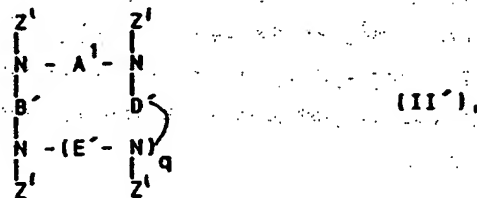
dadurch gekennzeichnet, daß man in an sich bekannter Weise in Verbindungen der allgemeinen Formel III



worin

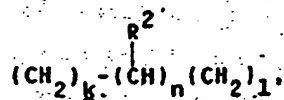
A' für die Gruppe $(CH_2)_m - CH - (CH_2)_1$,

wobei R¹ eine gegebenenfalls Imino-, Phenylenoxy-, Phenylenimino-, Amido-, Hydrazido-, Estergruppe(n), Sauerstoff-, Schwefel- und/oder Stickstoff-Atom(e) enthaltende, gegebenenfalls durch Hydroxy-, Mercapt-, Imino-, Epoxy-, Oxo-, Thioxo- und/oder Aminogruppe(n) substituierte geradkettige, verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C₀-C₂₀-Alkylengruppe, die am Ende entweder einen Ring der allgemeinen Formel II



oder eine funktionelle Gruppe bedeuten,

B', D' und E', die gleich oder verschieden sind, jeweils für die Gruppe



mit R² in der Bedeutung von Wasserstoff oder R¹.

Z' für Wasserstoff oder X' stehen, worin

X' die Reste $-COOY'$ oder $PO_3Y'_2$ mit Y' in der Bedeutung einer Säureschutzgruppe bedeuten

die Schutzgruppen Y' abspaltet und die so erhaltenen Säuren der Formel III' mit Y' in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms gewünschtenfalls

a) in an sich bekannter Weise mit mindestens einem Metalloxid oder Metallsalz eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44, 49 oder 57-83 umgesetzt und anschließend, falls gewünscht, vorhandene azide Wasserstoffatome durch Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren substituiert,

oder

b) in an sich bekannter Weise mit mindestens einem Metalloxid oder Metallsalz eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44, 49, oder 57-83 umgesetzt und anschließend die so erhaltenen Metallkomplexe in an sich bekannter Weise über die in R¹ enthaltene funktionelle Gruppe an ein Bio- oder Makromolekül bindet und, falls gewünscht, vorhandene azide Wasserstoffatome durch Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren substituiert,

oder

c) in an sich bekannter Weise über die in R¹ enthaltene funktionelle Gruppe an ein Bio- oder Makromolekül bindet und anschließend in an sich bekannter Weise mit mindestens einem Metalloxid oder Metallsalz eines Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44, 49 oder 57-83 umgesetzt und anschließend, falls gewünscht, vorhandene azide Wasserstoffatome durch Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren substituiert.

13. Verfahren gemäß Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß man die Kopplung des Bio- oder Makromoleküls an den funktionalisierten Komplex oder Liganden sowie, im Falle der Kopplung an den Liganden, die nachfolgende Komplexbildung mit dem/den gewünschten Metallion(en) an einer stationären Phase durchführt.

14. Verfahren zur Herstellung der pharmazeutischen Mittel gemäß Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß man die in Wasser der physiologischen Salzlösung gelöste oder suspendierte Komplexbildung, gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen Zusätzen, in eine für die enterale oder parenterale Applikation geeignete Form bringt.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/DE 88/00200

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) ⁶ According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC Int.Cl. ⁴ : C 07 D 257/02; 405/12; A 61 K 49/00; C 07 F 5/00; A 61 K 47/00																	
II. FIELDS SEARCHED <div style="text-align: center; border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black;">Minimum Documentation Searched ⁷</div> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%; border-bottom: 1px solid black;">Classification System</td> <td style="border-bottom: 1px solid black;">Classification Symbols</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Int.Cl.⁴:</td> <td style="padding: 5px;">C 07 D 257/00; C 07 D 405/00; A 61 K 49/00; C 07 F 5/00</td> </tr> </table> <div style="text-align: center; border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black;">Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸</div>			Classification System	Classification Symbols	Int.Cl. ⁴ :	C 07 D 257/00; C 07 D 405/00; A 61 K 49/00; C 07 F 5/00											
Classification System	Classification Symbols																
Int.Cl. ⁴ :	C 07 D 257/00; C 07 D 405/00; A 61 K 49/00; C 07 F 5/00																
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹ <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 10%; border-bottom: 1px solid black;">Category ¹⁰</th> <th style="width: 70%; border-bottom: 1px solid black;">Citation of Document, ¹¹ with Indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²</th> <th style="width: 20%; border-bottom: 1px solid black;">Relevant to Claim No. ¹³</th> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">A</td> <td style="padding: 5px;">FR, A, 2539996 (SCHERING AG) 3 August 1984, see front page; page 27; example 11; page 30; example 18 (cited in the application)</td> <td style="text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">1</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">P, A</td> <td style="padding: 5px;">WO, A, 87/06229 (GUERBET) 22 October 1987, see the whole document</td> <td style="text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">1</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">P, A</td> <td style="padding: 5px;">EP, A, 0238196 (CELLTECH) 23 September 1987, see the whole document</td> <td style="text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">1-14</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">P, A</td> <td style="padding: 5px;">EP, A, 0255471 (SCHERING AG) 3 February 1988, see the whole document</td> <td style="text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">1-14</td> </tr> </table>			Category ¹⁰	Citation of Document, ¹¹ with Indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³	A	FR, A, 2539996 (SCHERING AG) 3 August 1984, see front page; page 27; example 11; page 30; example 18 (cited in the application)	1	P, A	WO, A, 87/06229 (GUERBET) 22 October 1987, see the whole document	1	P, A	EP, A, 0238196 (CELLTECH) 23 September 1987, see the whole document	1-14	P, A	EP, A, 0255471 (SCHERING AG) 3 February 1988, see the whole document	1-14
Category ¹⁰	Citation of Document, ¹¹ with Indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³															
A	FR, A, 2539996 (SCHERING AG) 3 August 1984, see front page; page 27; example 11; page 30; example 18 (cited in the application)	1															
P, A	WO, A, 87/06229 (GUERBET) 22 October 1987, see the whole document	1															
P, A	EP, A, 0238196 (CELLTECH) 23 September 1987, see the whole document	1-14															
P, A	EP, A, 0255471 (SCHERING AG) 3 February 1988, see the whole document	1-14															
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>¹⁰ Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> </div> </div>																	
IV. CERTIFICATION <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; border-bottom: 1px solid black;">Date of the Actual Completion of the International Search</td> <td style="width: 50%; border-bottom: 1px solid black;">Date of Mailing of this International Search Report</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">21 June 1988 (21.06.88)</td> <td style="padding: 5px;">13 July 1988 (13.07.88)</td> </tr> <tr> <td style="border-bottom: 1px solid black;">International Searching Authority</td> <td style="border-bottom: 1px solid black;">Signature of Authorized Officer</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">European Patent Office</td> <td></td> </tr> </table>			Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	21 June 1988 (21.06.88)	13 July 1988 (13.07.88)	International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	European Patent Office								
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report																
21 June 1988 (21.06.88)	13 July 1988 (13.07.88)																
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer																
European Patent Office																	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 1985)

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.

DE 8800200

SA 21435

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 04/07/88. The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

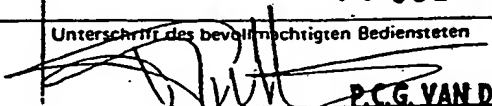
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR-A- 2539996	03-08-84	LU-A- 85177	24-05-84
		SE-A- 8400254	22-07-84
		DE-A- 3401052	26-07-84
		AU-A- 2355984	26-07-84
		JP-A- 59139390	10-08-84
		GB-A- 2137612	10-10-84
		NL-A- 8400079	16-08-84
		GB-A, B 2169598	16-07-86
		GB-A, B 2169599	16-07-86
		US-A- 4647447	03-03-87
		CH-B- 660183	31-03-87
		FR-A- 2590484	29-05-87
		BE-A- 898708	16-05-84
		AU-A- 1018488	28-04-88
WO-A- 8706229	22-10-87	FR-A- 2596992	16-10-87
		AU-A- 7235087	09-11-87
		EP-A- 0263861	20-04-88
EP-A- 0238196	23-09-87	WO-A- 8705030	27-08-87
		AU-A- 7027987	09-09-87
EP-A- 0255471	03-02-88	DE-A- 3625417	11-02-88
		AU-A- 7621787	04-02-88
		JP-A- 63041468	22-02-88

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE 88/00200

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben; ⁶)		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
Int. Cl. 4: C 07 D 257/02; 405/12; A 61 K 49/00; C 07 F 5/00; A 61 K 47/00		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int. Cl. 4	C 07 D 257/00; C 07 D 405/00; A 61 K 49/00; C 07 F 5/00	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehorende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN⁹		
Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
A	FR, A, 2539996 (SCHERING AG) 3. August 1984, siehe Titelseite; Seite 27; Beispiel 11; Seite 30; Beispiel 18 (in der Anmeldung erwähnt)	1
P, A	WO, A, 87/06229 (GUERBET) 22. Oktober 1987, siehe das ganze Dokument	1
P, A	EP, A, 0238196 (CELLTECH) 23. September 1987, siehe das ganze Dokument	1-14
P, A	EP, A, 0255471 (SCHERING AG) 3. Februar 1988, siehe das ganze Dokument	1-14

<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen¹⁰:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
21. Juni 1988		13 JUL 1988
Internationale Recherchenbehörde		Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten
Europäisches Patentamt		 P.C.G. VAN DER PUTTEN

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.**

DE 8800200
SA 21435

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 04/07/88.
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
FR-A- 2539996	03-08-84	LU-A- 85177	24-05-84
		SE-A- 8400254	22-07-84
		DE-A- 3401052	26-07-84
		AU-A- 2355984	26-07-84
		JP-A- 59139390	10-08-84
		GB-A- 2137612	10-10-84
		NL-A- 8400079	16-08-84
		GB-A, B 2169598	16-07-86
		GB-A, B 2169599	16-07-86
		US-A- 4647447	03-03-87
		CH-B- 660183	31-03-87
		FR-A- 2590484	29-05-87
		BE-A- 898708	16-05-84
		AU-A- 1018488	28-04-88
WO-A- 8706229	22-10-87	FR-A- 2596992	16-10-87
		AU-A- 7235087	09-11-87
		EP-A- 0263861	20-04-88
EP-A- 0238196	23-09-87	WO-A- 8705030	27-08-87
		AU-A- 7027987	09-09-87
EP-A- 0255471	03-02-88	DE-A- 3625417	11-02-88
		AU-A- 7621787	04-02-88
		JP-A- 63041468	22-02-88

PRO FORMI 10472